

PRÜFUNG DER KEIMREDUZIERENDEN WIRKUNG  
EINES DAMPFREINIGUNGSGERÄTES ANHAND  
MIKROBIOLOGISCHER UNTERSUCHUNGEN

von Veronika Bayerl

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität  
München

PRÜFUNG DER KEIMREDUZIERENDEN WIRKUNG  
EINES DAMPFREINIGUNGSGERÄTES ANHAND  
MIKROBIOLOGISCHER UNTERSUCHUNGEN

von Veronika Bayerl  
aus Vilshofen an der Donau

München 2016

Aus dem Zentrum für Klinische Tiermedizin der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Medizinische Kleintierklinik

Arbeit angefertigt unter der Leitung von: Univ.-Prof. Dr. Ralf S. Mueller

Mitbetreuung durch: Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger

**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

|                          |  |
|--------------------------|--|
| <b>Dekan:</b>            | Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun  |
| <b>Berichterstatter:</b> | Univ.-Prof. Dr. Ralf S. Mueller  |
| <b>Korreferent/en:</b>   | Univ.-Prof. Dr. Dr. habil. Manfred Gareis<br>Univ.-Prof. Dr. Dr. Michael H. Erhard |

Tag der Promotion: 06. Februar 2016

Meiner Familie

## INHALTSVERZEICHNIS

|             |   |           |
|-------------|---|-----------|
| <b>I.</b>   | <b>EINLEITUNG .....</b>   | <b>1</b>  |
| <b>II.</b>  | <b>LITERATURÜBERSICHT .....</b>                                     | <b>3</b>  |
| <b>1.</b>   | <b>Hygiene im Gesundheitsbereich.....</b>                           | <b>3</b>  |
| 1.1         | Definitionen und unterschiedliche Verfahren .....                   | 3         |
| 1.1.1       | Reinigung .....   | 3         |
| 1.1.2       | Desinfektion .....  | 4         |
| 1.1.3       | Sterilisation.....  | 6         |
| 1.2         | Anwendung im medizinischen Bereich.....                             | 8         |
| 1.3         | Bedeutung der Flächendesinfektion in der Infektionsprävention ..... | 10        |
| <b>2.</b>   | <b>Relevante Mikroorganismen im klinischen Alltag.....</b>          | <b>12</b> |
| 2.1         | Nosokomiale Infektionen .....                                       | 12        |
| 2.2         | Wichtige multiresistente Infektionserreger .....                    | 16        |
| 2.3         | Zoonotische Infektionen.....  | 19        |
| 2.4         | Biofilme.....   | 21        |
| <b>3.</b>   | <b>Prüfrichtlinien für chemische Desinfektionsmittel .....</b>      | <b>25</b> |
| 3.1         | Unterschiedliche Gremien.....                                       | 25        |
| 3.2         | Prüfmechanismen gemäß DVG.....                                      | 28        |
| <b>III.</b> | <b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>                                  | <b>33</b> |
| <b>1.</b>   | <b>Dampfreinigungsgerät .....</b>                                   | <b>33</b> |
| 1.1         | Technische Daten .....  | 33        |
| 1.2         | Vorbereitungen vor Versuchsbeginn.....                              | 34        |
| <b>2.</b>   | <b>Keimträger .....</b>   | <b>35</b> |
| 2.1         | Auswahl und Vorbereitung der Testflächen.....                       | 35        |
| 2.2         | Befestigungsvorrichtung .....                                       | 36        |
| <b>3.</b>   | <b>Testorganismen.....</b>  | <b>37</b> |
| 3.1         | Bakterielles Keimspektrum .....                                     | 37        |
| 3.2         | Mykologisches Keimspektrum.....                                     | 38        |
| <b>4.</b>   | <b>Studiendesign .....</b>  | <b>39</b> |
| 4.1         | Allgemeines.....  | 39        |
| 4.2         | Mikrobiologische Arbeitsmaterialien.....                            | 39        |

|            |  |            |
|------------|--|------------|
| 4.3        | Vorbereitungen vor Versuchsbeginn.....           | 42         |
| <b>5.</b>  | <b>Protokolle der Versuchsdurchführung .....</b> | <b>44</b>  |
| 5.1        | Vorversuche .....                                | 44         |
| 5.2        | Laborstudie.....                                 | 46         |
| 5.2.1      | Bakteriologische Untersuchungen.....             | 46         |
| 5.2.1.1    | McFarland-Experimente.....                       | 46         |
| 5.2.1.2    | Biofilm-Experimente.....                         | 48         |
| 5.2.2      | Mykologische Untersuchungen.....                 | 49         |
| 5.3        | Feldstudie .....                                 | 51         |
| 5.4        | Scoring-System .....                             | 54         |
| <b>IV.</b> | <b>ERGEBNISSE .....</b>                          | <b>55</b>  |
| <b>1.</b>  | <b>Allgemeine Hinweise .....</b>                 | <b>55</b>  |
| <b>2.</b>  | <b>Ergebnisse der Vorversuchsreihe .....</b>     | <b>55</b>  |
| <b>3.</b>  | <b>Ergebnisse der Laborstudie.....</b>           | <b>58</b>  |
| 3.1        | Bakteriologische Versuchsergebnisse.....         | 58         |
| 3.1.1      | McFarland-Experimente.....                       | 58         |
| 3.1.2      | Biofilm-Experimente.....                         | 67         |
| 3.2        | Mykologische Versuchsergebnisse .....            | 74         |
| 3.3        | Statistische Anmerkungen.....                    | 78         |
| <b>4.</b>  | <b>Ergebnisse der Feldstudie.....</b>            | <b>78</b>  |
| <b>V.</b>  | <b>DISKUSSION .....</b>                          | <b>83</b>  |
| <b>1.</b>  | <b>Laborstudie .....</b>                         | <b>83</b>  |
| 1.1        | Auswahl der Testorganismen und Keimträger.....   | 83         |
| 1.2        | Wahl der Methode .....                           | 85         |
| 1.3        | Methodische Probleme .....                       | 86         |
| 1.4        | Diskussion der Ergebnisse .....                  | 89         |
| <b>2.</b>  | <b>Feldstudie .....</b>                          | <b>95</b>  |
| 2.1        | Auswahl der Lokalisationen.....                  | 95         |
| 2.2        | Wahl der Methode .....                           | 95         |
| 2.3        | Methodische Probleme .....                       | 96         |
| 2.4        | Diskussion der Ergebnisse .....                  | 98         |
| <b>3.</b>  | <b>Schlussfolgerungen.....</b>                   | <b>100</b> |

---

|              |                                    |            |
|--------------|------------------------------------|------------|
| <b>VI.</b>   | <b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>       | <b>104</b> |
| <b>VII.</b>  | <b>SUMMARY .....</b>               | <b>106</b> |
| <b>VIII.</b> | <b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>  | <b>108</b> |
| <b>IX.</b>   | <b>ANHANG .....</b>                | <b>130</b> |
| <b>1.</b>    | <b>Abbildungsverzeichnis .....</b> | <b>130</b> |
| <b>2.</b>    | <b>Rohdaten .....</b>              | <b>132</b> |
| 2.1          | Vorversuche .....                  | 132        |
| 2.2          | Laborstudie .....                  | 135        |
| 2.3          | Feldstudie .....                   | 144        |
| <b>3.</b>    | <b>Statistik .....</b>             | <b>147</b> |
| 3.1          | Laborstudie .....                  | 147        |
| 3.2          | Feldstudie .....                   | 154        |
| <b>X.</b>    | <b>DANKSAGUNG .....</b>            | <b>155</b> |



**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

|            |   |                 |  |
|------------|---|-----------------|--|
| <i>A.</i>  | <i>Acinetobacter</i>  | ESBL            | Extended-Spectrum-Betalactamase  |
| Abb.       | Abbildung   | EU              | Europäische Union  |
| BfArM      | Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte         | GHUP            | Gesellschaft für Hygiene, Umweltmedizin und Präventivmedizin                 |
| BSA        | Bovines Serumalbumin  | HACCP           | Hazard Analysis and Critical Control Points                                  |
| <i>C.</i>  | <i>Clostridium</i>  | HAI             | Healthcare-associated Infections   |
| CDC        | Centers for Disease Control and Prevention                  | HPC             | Heterotrophic Plate Counts   |
| CFU        | Colony Forming Unit   | IfSG            | Infektionsschutzgesetz   |
| DGHM       | Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie e. V.   | ISO             | Internationale Organisation für Normung                                      |
| DGKH       | Deutsche Gesellschaft für Krankenhaushygiene e. V.          | <i>K.</i>       | <i>Klebsiella</i>  |
| DIN        | Deutsches Institut für Normung e. V.                        | KISS            | Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System                                   |
| DNA        | Desoxyribonukleinsäure                                      | Konz.           | Konzentration  |
| DSMZ       | Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH | KRINKO          | Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention                   |
| DVG        | Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e. V.           | LMU             | Ludwig-Maximilians-Universität München                                       |
| <i>E.</i>  | <i>Escherichia</i>  | log             | Logarithmisch  |
| EARS-Net   | European Antimicrobial Resistance Surveillance Network      | MALDI-TOF MS    | Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization-Time-of-Flight Mass Spectrometry |
| ECBO-virus | Enteric cytopathogenic bovine orphan-virus                  | <i>M. bovis</i> | <i>Mycobacterium bovis</i>   |
| ECDC       | European Centre for Disease Prevention and Control          | <i>Mc</i>       | <i>Microsporium canis</i>  |
| EHEC       | Enterohämorrhagische <i>Escherichia coli</i>                | McF             | McFarland  |
| EN         | Europäische Norm  | MDRO            | Multi-drug-resistant organisms   |
| EO         | Ethylenoxid   | MHK             | Minimale Hemmkonzentration   |

|           |  |           |   |
|-----------|--|-----------|---|
| MRGN      | Multiresistente gramnegative Bakterien                         | Red.      | Reduktion   |
| MRSA      | Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i>           | RKI       | Robert-Koch-Institut                                |
| MRSP      | Methicillin-resistenter <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> | <i>S.</i> | <i>Staphylococcus</i>                               |
| MSSA      | Methicillin-sensibler <i>Staphylococcus aureus</i>             | SAL       | Sterility assurance level                           |
| NaCl      | Natriumchlorid   | SARS      | Schweres Akutes Respiratorisches Syndrom            |
| ND        | Newcastle Disease  | sp./spp.  | Spezies/Spezies                                     |
| Nr.       | Nummer   | <i>Sp</i> | <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>              |
| OS        | Organic solvent  | UBA       | Umweltbundesamt                                     |
| <i>P.</i> | <i>Pseudomonas</i>   | VAH       | Verbund für angewandte Hygiene e. V.                |
| <i>Pa</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                                  | VRE       | Vancomycin-resistente Enterokokken                  |
| PBS       | Phosphate buffered saline                                      | VRSA      | Vancomycin-resistenter <i>Staphylococcus aureus</i> |
| PCA       | Plate count agar   | VSE       | Vancomycin-sensible Enterokokken                    |
| proz.     | Prozentuale  |           |   |
| PVC       | Polyvinylchlorid   |           |   |

## I. EINLEITUNG

Die Entwicklung nosokomialer Infektionsraten stellt ein größer werdendes Problem im Gesundheitswesen dar. Laut dem „European Centre for Disease Prevention and Control“ (ECDC) erkrankt an einem beliebigen Tag jeder 18. Patient an einer nosokomialen Infektion und die Gesamtzahl der Erkrankungsfälle in Akutkrankenhäusern wird zwischen 2011 und 2012 auf 3,2 Millionen geschätzt (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2013). In der Veterinärmedizin ist die Datenlage zu diesem Thema begrenzt, da Überwachungsmechanismen ähnlich der Humanmedizin, wie etwa das deutsche „Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System“ (KISS), fehlen (ROBERT KOCH-INSTITUT, 2002). Dennoch wird die Häufigkeit nosokomialer Infektionen ähnlich, zum Teil auch höher, eingeschätzt und es wird zudem vermutet, dass diese ähnlich zur Humanmedizin weiter ansteigen wird. Dies liegt in unterschiedlichen Faktoren, wie etwa längeren Hospitalisierungszeiten, vermehrten intensivmedizinischen Eingriffen und einem stetig steigenden Antibiotikaeinsatz begründet. Multiresistente Erreger, wie etwa multiresistente gramnegative Bakterien (MRGN) (z. B. *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* oder *Acinetobacter* spp.), MRSA oder Vancomycin-resistente Organismen (VRE, VRSA) sind häufig an nosokomialen Infektionen beteiligt und erhöhen Morbiditäts- und Mortalitätsraten aufgrund begrenzter Behandlungsmöglichkeiten (STULL & WEESE, 2015). Darüber hinaus stellen nosokomiale Infektionserreger alle Beteiligten aufgrund langer Überlebenszeiten in Umweltreservoir und einem damit einhergehenden Infektionsrisiko vor eine große Herausforderung (KRAMER et al., 2006). Hierbei spielt die Reinigung und Desinfektion von Oberflächen im Gesundheitswesen eine entscheidende Rolle und hilft Kreuzkontaminationen vorzubeugen (GEBEL et al., 2013; WEBER et al., 2013). Die Industrie reagiert auf das größer werdende Bewusstsein im Gesundheitswesen mit der Entwicklung von automatischen Desinfektionsgeräten, welche z. B. mit Dampf, Ozon, Hydrogenperoxid oder UV-Licht arbeiten, und mit antimikrobiellen Oberflächen (antiadhäsive, antimikrobielle Beschichtungen). Sie versucht somit, die Bandbreite und Qualität von konventionellen Reinigungs- und Desinfektionspraktiken zu erweitern (DANCER, 2014). Berichte über die Wirksamkeit von Dampfreinigungsgeräten sind begrenzt, jedoch gibt es in der

Fachliteratur einige Beispiele über deren nützlichen Einsatz in der Routinereinigung und in Ausbruchssituationen (HAAS et al., 1998; TANNER, 2009; SEXTON et al., 2011; SONG et al., 2012; ABERNETHY et al., 2013; GILLESPIE et al., 2013; WOOD et al., 2014; GILLESPIE et al., 2015). Eine detaillierte Studie gegen die hier ausgewählten Mikroorganismen, im Speziellen gegen *Microsporum canis* (*Mc*) Sporen, unter den folgenden Testbedingungen wurde jedoch noch nicht verzeichnet.

Ziel dieser Studie war es, die bakterizide und sporozide Wirkung eines handelsüblichen Dampfreinigungsgerätes auf verschiedenen Oberflächen unter kontrollierten Laborbedingungen und unter praxisnahen, realistischen Bedingungen in einer tiermedizinischen Klinik zu beurteilen. *Staphylococcus pseudintermedius* (*Sp*), *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) und *Mc* stellen typische und epidemiologisch wichtige Pathogene dar und wurden daher als Indikatororganismen (grampositiv, gramnegativ, Pilzsporen) für den laborexperimentellen Studienteil ausgewählt.

## **II. LITERATURÜBERSICHT**

### **1. Hygiene im Gesundheitsbereich**

#### **1.1 Definitionen und unterschiedliche Verfahren**

##### **1.1.1 Reinigung**

Reinigung beschreibt den manuellen bzw. automatisierten Prozess des Entfernens von Verunreinigungen, wie z. B. chemischen Substanzen, Schmutz, Mikroorganismen oder organischem Material, von Gegenständen und Oberflächen in der Regel unter Zuhilfenahme von Wasser unter Zusatz von reinigungsverstärkenden Mitteln, wie z. B. Detergentien oder enzymatischen Produkten (RUTALA, 1996; EXNER et al., 2004; KOMMISSION FÜR KRANKENHAUSHYGIENE UND INFEKTIONSPRÄVENTION BEIM ROBERT-KOCH-INSTITUT (RKI), 2004; RUTALA et al., 2008; HEIN, 2013; JUWARKAR, 2013). Der keimreduzierende Effekt von Reinigungsmaßnahmen ist nicht standardisiert bzw. quantifiziert und wird auf 50 - 80 % geschätzt (AYLIFFE et al., 1966; AYLIFFE et al., 1967; RABBENSTEIN, 1979; DASCHNER et al., 1980; KOMMISSION FÜR KRANKENHAUSHYGIENE UND INFEKTIONSPRÄVENTION BEIM ROBERT-KOCH-INSTITUT (RKI), 2004). Trocken- und Nassreinigung werden bei der Reinigung als verschiedene Verfahren unterschieden. Trockenreinigung durch z. B. Fegen, Bürsten oder Absaugen kann zu mikrobiologisch kontaminierten Staubverwirbelungen und somit zu einer Erregerverteilung oder -inhalation führen. Dies sollte insbesondere in geschlossenen Räumen beachtet werden. Die Nassreinigung, z. B. durch Wischen, hingegen arbeitet mit Reinigungsmitteln, wie etwa Detergentien oder Enzymen, welche keinen keimabtötenden Effekt besitzen, und somit können Reinigungsutensilien (Mop, Tücher, Wischwasser, usw.) nach kurzer Zeit sehr hohe Keimzahlen aufweisen. Erregerverteilungen können die Folge sein. Daher sollten alle an der Reinigung beteiligten Materialien häufig gewechselt bzw. vor Wiederverwendung keimabtötend behandelt werden (CHRISTIANSEN et al., 1995; KRAMER & ASSADIAN, 2008).

Eine Abtötung von Mikroorganismen wird bei der Reinigung nicht primär beabsichtigt, jedoch werden mit den Verunreinigungen auch daran gebundene

Erreger entfernt. Somit werden die Oberflächen und Gegenstände für einen sicheren Gebrauch und für eventuell weitere Dekontaminierungsschritte vorbereitet (EXNER et al., 2004; HEIN, 2013). Die Reinigung stellt somit eine wichtige Voraussetzung für darauffolgende Desinfektion oder Sterilisation dar, da organisches bzw. anorganisches Material die Effektivität der genannten Vorgänge massiv beeinflussen und stören können (RUTALA, 1996; RUTALA & WEBER, 1999; BLOCK, 2001; RUTALA et al., 2008).

### **1.1.2 Desinfektion**

Unter Desinfektion versteht man ein Verfahren, welches eine Reduktion der Anzahl vermehrungsfähiger Mikroorganismen erreicht. Ziel ist es, durch Abtötung bzw. Inaktivierung pathogener bzw. fakultativ pathogener Keime einen Gegenstand oder eine Oberfläche in einen Zustand zu versetzen, von dem keine Infektionsgefährdung mehr ausgeht (RABBENSTEIN, 1979; RUTALA, 1996; RUTALA & WEBER, 1999; EXNER et al., 2004; KOMMISSION FÜR KRANKENHAUSHYGIENE UND INFEKTIONSPRÄVENTION BEIM ROBERT-KOCH-INSTITUT (RKI), 2004; RUTALA et al., 2008; JUWARKAR, 2013). Die Keimreduktionsrate bei wirksamen Desinfektionsverfahren beträgt 84 – 99,9 % (AYLIFFE et al., 1966; AYLIFFE et al., 1967; RABBENSTEIN, 1979; DASCHNER et al., 1980; DHARAN et al., 1999). Der Prozess hängt maßgeblich von einer Reihe von Faktoren ab. Dazu zählen Art und Anzahl der Mikroorganismen, Besiedlungsort, deren Resistenzlage und eine mögliche Ausbildung von Biofilmen. Auch das Desinfektionsmittel selbst, dessen Konzentration, Wirkungsspektrum und Einwirkzeit spielen eine wichtige Rolle im richtigen Einsatz. Zusätzlich beeinflussen eine Vielzahl von chemischen und physikalischen Faktoren, wie Temperatur, pH-Wert, relative Feuchtigkeit oder Wasserhärte den möglichen germiziden Effekt. Organische oder anorganische Stoffe können die Reduktionskraft herabsetzen, wie etwa Eiweiße (z. B. Serum, Blut, Eiter; sog. „Eiweißfehler“) oder anorganische Substanzen (z. B. Salzkristalle). Neben Eiweißen können Desinfektionsmittel auch durch Reinigungsmittel (sog. „Seifenfehler“) inaktiviert werden (KRAMER & ASSADIAN, 2008; RUTALA et al., 2008).

Desinfektionsmethoden gliedern sich in vier unterschiedliche Wirkungsbereiche auf, die für die richtige Auswahl des geeigneten Mittels für einen bestimmten Zweck entscheidend sind: A: Wirkung gegen vegetative Bakterien (einschließlich

Mykobakterien), Pilze und Pilzsporen; B: Viren; C: bakterielle Sporen bis zur Resistenzstufe der *Bacillus anthracis*-Sporen; D: bakterielle Sporen bis zur Resistenzstufe von *Clostridium perfringens*-Sporen. Wirkungsbereich D wird normalerweise nur durch die Sterilisation erreicht, jedoch können spezielle Desinfektionsmittel, wie „chemical sterilants“ oder „high-level disinfectants“ auch dieses Niveau erzielen. Im Gegensatz zur Sterilisation ist die Desinfektion laut Definition im Normalfall nicht gegen bakterielle Sporen wirksam. Jedoch erreichen bestimmte Desinfektionsmittel bei genügend langer Einwirkzeit (3 - 12 Stunden) ein sporozides Level („chemical sterilants“). Ebenso inaktivieren dieselben Desinfektionsmittel in einer ähnlichen Konzentration, aber kürzerer Einwirkzeit alle Mikroorganismen, jedoch nicht größere Mengen an Bakteriensporen („high-level disinfectants“). Als „low-level disinfectants“ werden Germizide bezeichnet, die neben den meisten vegetativen Bakterien, auch die meisten lipidhaltigen Viren oder Viren mittlerer Größe und die meisten Pilze in  $\leq 10$  Minuten abtöten können. Dazwischen angesiedelt sind die „intermediate-level disinfectants“. Diese wirken tuberkulozid, zerstören zudem vegetative Bakterien, mittelgroße und kleine Viren (lipidhaltig oder nicht) und Pilze (einschließlich asexueller Sporen), jedoch nicht zwingendermaßen Sporen (BLOCK, 2001; RUTALA et al., 2008).

Desinfektionsverfahren können darüber hinaus hinsichtlich der Art ihrer Durchführung (Wisch-/Scheuer-, Sprühdesinfektion, Vernebeln oder Verdampfen, Hitze oder Bestrahlung), der Art des zu desinfizierenden Gegenstandes (Hände-, Instrumenten-, Flächen-, Raum-, Wäsche-, Abfall-, Wasser- und Abwasserdesinfektion, Desinfektion von Geräten und Mobiliar) und ihrer Aufgabenstellung (laufende und gezielte Desinfektion) erfasst werden (KRAMER & ASSADIAN, 2008). Zudem hat sich Unterscheidung dreier unterschiedlicher Desinfektionsverfahren etabliert: physikalische, chemisch-thermische und chemische Desinfektion (DEUTSCHEN INSTITUT FÜR NORMUNG E.V., 2009).

Die physikalische Desinfektion gliedert sich in thermische und aktinische Verfahren auf. Hitzeeinwirkung führt zum Zelltod durch Zerstörung von funktionellen oder mechanischen Strukturen der Zelle infolge von Proteindenaturierung. Aktinische Methoden bewirken bei ionisierenden Strahlen (Beta- oder Gammastrahlen) eine Stoffwechselstörung durch Nukleinsäure- und

Proteinreaktionen, während ultraviolette Strahlen (UV-Strahlen) die exakte Replikation der DNA durch reversible Änderungen an den Nukleinsäuren verhindern. Die thermische Desinfektion ist das Mittel der Wahl bei thermostabilen Gütern und sollte dem Einsatz chemischer Desinfektionsmittel, u. a. wegen der höheren Zuverlässigkeit, vorgezogen werden (STEUER & SCHUBERT, 2007; KRAMER & ASSADIAN, 2008).

Chemisch-thermische Desinfektion ist ein kombiniertes Verfahren, bei dem man sich die Tatsache zunutze macht, dass desinfizierende Mittel bei höheren Temperaturen eine stärkere keimreduzierende Wirkung entfalten und somit die Einwirkzeit und/oder die Konzentration des Desinfektionsmittels reduziert werden können (DEUTSCHEN INSTITUT FÜR NORMUNG E.V., 2009). Diese Verfahren sind als erste Wahl bei thermolabilen Materialien ( $> 40 - 65\text{ °C}$ ) anzusehen.

Chemische Desinfektionsmittel blockieren den Stoffwechsel von Mikroorganismen oder lösen Bestandteile dieser auf. Für gewöhnlich werden im medizinischen Bereich flüssige Desinfektionsmittelzubereitungen und Aerosole abhängig vom jeweiligen Anwendungsbereich eingesetzt (STEUER & SCHUBERT, 2007).

### 1.1.3 Sterilisation

Die Sterilisation ist eine validierte Methode zur Befreiung eines Gegenstandes oder einer Flüssigkeit von überlebensfähigen Mikroorganismen einschließlich mikrobieller Dauerstadien (Sporen). Ziel ist es, alle Formen mikrobiologischen Lebens einschließlich bakterieller Sporen und Pilzsporen komplett zu zerstören bzw. zu entfernen und somit eine absolute Keimfreiheit zu erlangen (RUTALA, 1996; RUTALA & WEBER, 1999; RUTALA et al., 2008; JUWARKAR, 2013). Hierbei verläuft die Inaktivierung der Mikroorganismen exponentiell. Die Wahrscheinlichkeit, überlebensfähige Mikroorganismen nach dem Verfahren zu finden, ist sehr gering, aber niemals null. Diese Wahrscheinlichkeit beschreibt das „Sterilitätssicherheitsniveau“ (SAL), mit dem als Wert ausgedrückt werden kann, ob ein bestimmtes Objekt als steril zu betrachten ist (DEUTSCHEN INSTITUT FÜR NORMUNG E.V., 2006). Angegeben wird SAL als  $10^{-n}$ , so ist z. B. die Wahrscheinlichkeit, dass eine von 1 Million Sporen überlebt  $10^{-6}$  (RUTALA & ASSOCIATION FOR PROFESSIONAL IN INFECTION CONTROL AND



EPIDEMIOLOGY, 2001). Laut DIN EN 556-1 (2001) dürfen Medizinprodukte nur dann als steril gekennzeichnet werden, wenn das Sterilitätsniveau kleiner oder gleich  $10^{-6}$  ist (DEUTSCHEN INSTITUT FÜR NORMUNG E.V., 2001).

In der Sterilisation werden rein physikalische (Dampf, trockene Hitze, Bestrahlung) von chemisch-physikalischen Prozessen unterschieden. Das am häufigsten angewendete Sterilisationsverfahren ist die Autoklavierung. Insgesamt werden vier Arten von Dampf unterschieden: gesättigter Dampf (Sattdampf), gespannter Dampf, ungesättigter Dampf und überhitzter Dampf. Im Autoklaven finden nur gesättigter ( $< 10\%$  Luftanteil) und gespannter (unter Druck stehender) Dampf Anwendung, da durch sinkenden Wassergehalt und steigender Überhitzung (überhitzter Dampf) bzw. fehlenden Druck (ungesättigter Dampf) die Inaktivierungsfähigkeit stark abnimmt (CHRISTIANSEN et al., 1995; STEUER & SCHUBERT, 2007; KRAMER & ASSADIAN, 2008).

Zudem ist die Abtötung von Mikroorganismen durch trockene Heißluft infolge von Proteindenaturierung und irreversiblen Schäden an DNA und Zellmembran möglich. Jedoch ist trockene Luft ein schlechter Wärmeleiter und -überträger, und Mikroorganismen können sehr hitzeresistent unter angetrockneten Bedingungen sein. Sporen mit geringen Wassergehalten von etwa  $10\%$  sind resistenter als vegetative Bakterien, da infolge der zusätzlichen Wasserreduktion im Laufe der Sterilisation die Koagulationstemperatur ansteigt. Folglich müssen sehr hohe Temperaturen ( $> 160\text{ °C}$ ) und lange Einwirkzeiten auf die Güter wirken, um eine zufriedenstellende Sicherheit zu erzielen. Voraussetzung für dieses Verfahren sind daher trockene und sehr hitzeresistente Güter (STEUER & SCHUBERT, 2007; KRAMER & ASSADIAN, 2008).

Eine weitere physikalische Methode der Sterilisation ist die Bestrahlung. UV-Strahlung ist hierzu aufgrund der geringen Eindringtiefe und potentiellen Reaktivierung der Mikroorganismen nicht geeignet. Anwendung finden v. a. energiereiche ionisierende Beta- oder Gammastrahlen, die durch die Bildung von freien Radikalen keimabtötend wirken. Aufgrund von strengen Auflagen und hohen Betriebskosten findet diese Methodik nur in wenigen Anlagen, z. B. bei der Behandlung von Arzneimitteln, Lebensmitteln oder bestimmten Medizinprodukten ihren Einsatz (KRAMER & ASSADIAN, 2008).

Thermolabile Materialien, insbesondere Medizinprodukte, können mit Hilfe von

Niedrigtemperaturverfahren, wie Ethylenoxid (EO)-Gassterilisation, Niedrigtemperatur-Dampf-Formaldehyd (NTDF)-Sterilisation und Wasserstoffperoxid-Gasplasma-Sterilisation (Sterrad®-Verfahren) sterilisiert werden. Sterilisation mit Gasen der Gefahrstoffverordnung, wie etwa Ethylenoxid und Formaldehyd, bringen jedoch hohe Auflagen mit sich (RUTALA & WEBER, 2001; GASTMEIER & RÜDEN, 2003; STEUER & SCHUBERT, 2007; KRAMER & ASSADIAN, 2008; RUTALA et al., 2008)

## **1.2 Anwendung im medizinischen Bereich**

Oberflächen in Patientenräumen sollten entsprechend vorgegebener Reinigungsrichtlinien regelmäßig gereinigt bzw. zusätzlich desinfiziert werden. Die Art und Häufigkeit der Reinigung hängt von dem Risikobereich, dem Patientenumsatz und -verkehr, und gegebenen Oberflächeneigenschaften ab. Häufige und gründliche Dekontaminationen kommen z. B. in Operationssälen, auf Intensivstationen oder in sog. Reinräumen zum Einsatz. Hingegen werden Korridore, Treppenhäuser, Büro-, Wartezimmer oder etwa Eingangsbereiche weniger intensiv dekontaminiert. Die Festlegung der Reinigungspraxis sollte immer schriftlich vorliegen und mit entsprechenden Hygienefachkräften bzw. einem Hygienebeauftragten abgestimmt sein. Die Routinereinigung von Flächen wird i. d. R. manuell mit Geräten, wie Eimer und Mop, Besen, Bürsten oder Tüchern durchgeführt. Elektrogeräte wie Staubsauger oder Reinigungsmaschinen können hierbei auch zum Einsatz kommen (DANCER, 2014). Begriffe, die in diesem Zusammenhang häufig genannt werden, sind „high touch“ oder „high risk“ Flächen. Als „high touch“ Flächen werden per Definition diejenigen Flächen bezeichnet, die häufig im medizinischen Alltag berührt werden (HUSLAGE et al., 2010). Die Erregerkontamination ist im Vergleich zu „low touch“ Flächen annähernd identisch, jedoch ist die Transmissionswahrscheinlichkeit durch den häufigeren Kontakt höher. Der Begriff „high risk“ Flächen arbeitet mit Strategien aus der Lebensmittelindustrie basierend auf dem HACCP-Konzept (hazard analysis and critical control points) und versucht das Risiko einer Erregerübertragung durch eine Vielzahl von integrierten Kontrollpunkten zu vermeiden (GRIFFITH, 2006).

Da Vorgaben hinsichtlich der Desinfektion von Oberflächen in der Veterinärmedizin fehlen, soll an dieser Stelle auf die aktuellen Empfehlungen der „Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention“ (KRINKO) des

„Robert Koch-Institutes“ (RKI) verwiesen werden. Die 2004 publizierte Empfehlung über die Anforderungen an die Hygiene von Oberflächen hilft bei der Erstellung von Hygieneplänen, die laut Unfallverhütungsvorschrift und dem Infektionsschutzgesetzes (§ 36) in der Humanmedizin vorgeschrieben sind. Die Entscheidung, ob Reinigung, Desinfektion oder desinfizierende Reinigung auf Flächen stattfinden soll, hängt von unterschiedlichen Faktoren ab, wie deren mögliche Erregerkontamination, dem Grad der Immunsuppression des Patienten und der Kontaktwahrscheinlichkeit. Dies spiegelt sich in der Deklaration unterschiedlicher Risikobereiche wieder (KOMMISSION FÜR KRANKENHAUSHYGIENE UND INFEKTIONSPRÄVENTION BEIM ROBERT-KOCH-INSTITUT (RKI), 2004).

Neben kommerziellen Reinigungsmitteln werden in manchen Ländern (z. B. England) in Krankenhäusern auch routinemäßig Desinfektionsmittel für unkritische Flächen, wie Fußböden, verwendet, obgleich es bis dato keine Beweise gibt, dass die mikrobielle Reduktion wesentlich länger als nur durch Reinigungsmitteln anhält bzw. diese Vorgehensweise einen Einfluss auf die nosokomiale Infektionsrate hat (DHARAN et al., 1999; DETTENKOFER et al., 2004). Zudem ist das Ausbleiben des gewünschten Dekontaminationserfolges, etwa durch Resistenz- oder Biofilmbildung, auch bei der Desinfektion möglich (HEGSTAD et al., 2010; BRIDIER et al., 2011; VICKERY et al., 2012). Die Verwendung von Desinfektionsmitteln auf unkritischen Flächen wird von Befürwortern durch die höhere Effektivität im Gegensatz zu Reinigungsmitteln, die Gefahr der Verunreinigung und Weiterverbreitung durch kontaminiertes Reinigungswasser, die für bestimmte Situationen bereits vorgeschriebene Desinfektionspraxis (z. B. potentiell infektiöses Material/Mikroorganismen oder auf Isolationsstationen), die Vereinfachung durch die Benutzung nur eines Produktes und nicht zuletzt durch das Vorhandensein epidemiologisch wichtiger Krankheitserreger auf Oberflächen gerechtfertigt. Gegner hingegen befürworten den Einsatz von Reinigungsmitteln auf unkritischen Oberflächen aufgrund von Kostenersparnissen, ästhetischen Gründen, einer geringeren Umwelt-, Resistenz- und Gesundheitsgefährdung und der minimalen Beteiligung von Flächen an nosokomialen Infektionen (RUTALA & WEBER, 2004).

Zahlreiche Studien brachten jedoch davon unabhängig zum Vorschein, dass eine adäquate Reinigung in Krankenhäusern häufig fehlt und weniger als 50 % der

Zimmeroberflächen angemessen gereinigt werden (CARLING et al., 2006; CARLING et al., 2008a; CARLING et al., 2008b; GOODMAN et al., 2008; HAVILL et al., 2011). Auch in der Veterinärmedizin wurden ähnliche Mängel festgestellt (AKSOY et al., 2010; WEESE et al., 2012). Verbesserungen und Empfehlungen hinsichtlich adäquater Dekontaminationsstrategien sind daher wünschenswert. Als erfolgversprechende Alternativen erscheinen als Reaktion auf das stetig wachsende Bewusstsein über die Wichtigkeit einer risikogerechten Dekontamination neue Technologien auf dem Markt. Dazu zählen etwa optimierte Reinigungs- und Desinfektionspläne mit integrierten Erfolgskontrollen (z. B. ATP-Biolumineszenz, Fluoreszenzfärbung oder Abklatschproben), neue vollautomatisierte Desinfektionsgeräte, welche z. B. mit Dampf, Ozon, Hydrogenperoxid, oder UV-Strahlung arbeiten, oder selbstdesinfizierende Oberflächen (antiadhäsive, antimikrobielle Beschichtungen) (DANCER, 2014).

Nichtkritischen Oberflächen, wie etwa Fußböden, Wänden oder Behandlungstischen, kommt in der Veterinärmedizin oftmals eine größere Bedeutung hinsichtlich der Kontamination mit pathogenen Krankheitserregern zu, da solche im Gegensatz zur Humanmedizin häufig durch Körperflüssigkeiten der Patienten verunreinigt werden können. Zudem teilen die Patienten häufig dasselbe medizinische Material bzw. dieselben Behandlungslokalisationen und besitzen nicht die Distanz zum Boden, wie etwa Humanpatienten in Krankenhausbetten. Auch die Hände des Gesundheitspersonals bergen hier große Risiken für die Übertragung von Mikroorganismen. Daher spielen Händehygienepläne eine bedeutende Rolle in Präventionsstrategien und sind ein wirkungsvoller Weg der Übertragung von Pathogenen vorzubeugen.

Letztlich kann durch ein verständliches und durchführbares Reinigungs- und Desinfektionsprogramm die Belastung mit Pathogenen häufig extrem reduziert werden, wobei der regelmäßigen Mitarbeiterschulung eine wichtige Bedeutung zukommt. Trotz des Fehlens bindender Vorgaben ist es wünschenswert, dass alle zusammen an einem Strang ziehen, um in Zukunft nosokomiale Infektionen durch eine gute Hygienepraxis zu minimieren (PORTNER & JOHNSON, 2010).

### **1.3 Bedeutung der Flächendesinfektion in der Infektionsprävention**

Bereits 1968 schlug E. H. Spaulding in der Infektionsprävention von Medizinprodukten und Oberflächen die Einteilung in drei Kategorien vor:

unkritisch, semikritisch und kritisch 881. Diese Klassifikation liegt auch heute noch vielen Empfehlungen als Grundbaustein zum Einsatz von Desinfektionsmitteln zugrunde (BLOCK, 2001). Demnach besitzen kritische Gegenstände, wie z. B. Katheter oder Operationsbesteck, die mit sterilem Gewebe und/oder dem Gefäßsystem in Kontakt kommen, ein sehr hohes Infektionspotential und müssen bei Anwendung zwingend steril sein. Semikritische Gegenstände, wie z. B. flexible Endoskope oder Spektula, kommen mit Schleimhäuten oder nicht-intakter Haut in Berührung und sollten durch high-level disinfection aufbereitet werden. Unkritische Gegenstände gelangen nur an intakte Haut und bergen somit ein geringeres Infektionsrisiko, da diese ein effektives Barriersystem gegen viele Mikroorganismen darstellen. Gegenstände dieser Gruppe (z. B. EKG-Elektroden oder Blutdruckmessgeräte) sollten mit low-level disinfectants dekontaminiert werden. Auch Flächen in der Umwelt werden als unkritisch angesehen, da diese ebenso mit intakter Haut in Berührung kommen (RUTALA et al., 2008; ROBERT KOCH-INSTITUT, 2012).

Im letzten Jahrhundert kristallisierte sich jedoch immer deutlicher heraus, dass kontaminierte Oberflächen eine entscheidende Rolle in der endemischen und epidemischen Übertragung von bestimmten Schlüsselpathogenen spielen. Es konnte eine Verbindung zwischen Mikroorganismen aus Umweltreservoirs und dem nosokomialen Infektionsrisiko hergestellt werden (RUTALA & WEBER, 2004, 2013). Die Hauptquelle nosokomialer Infektionen liegt nach wie vor in der patienteneigenen Mikrobiota (40 - 60 %). Zwanzig - Vierzig Prozent können jedoch Kreuzinfektionen durch die Hände des Pflegepersonals zugeordnet werden und weitere 20 % der Umwelt und anderen Faktoren (CARLING & HUANG, 2013; OTTER et al., 2013). (WEINSTEIN, 1991; HUSLAGE et al., 2010), HAYDEN et al. (2008) oder STIEFEL et al. (2011) konnten beweisen, dass eine Hand- bzw. Handschuhkontamination mit bestimmten Pathogenen (VRE, MRSA oder *C. difficile*) genauso wahrscheinlich nach Patientenberührung wie nach Kontakt mit Oberflächen auftritt.

Mit der seit 1980 stetig steigenden Zahl nosokomialer Infektionen und dem damit einhergehenden Morbiditäts- und Mortalitätsraten steigt das allgemeine Interesse an der Rolle der Oberflächendesinfektion in der Infektionsprävention GUERRERO et al. (2012). Besonders multiresistente Mikroorganismen (MDRO), wie etwa multiresistente gramnegative Bakterien (MRGN) (z. B. *E. coli*,

*P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp.), MRSA, Vancomycin-resistente Bakterien (VRE, VRSA), spielen als nosokomiale Infektionserreger eine entscheidende Rolle. Dabei besitzen viele der Mikroorganismen die Fähigkeit bis zu mehreren Monaten in der Umwelt zu überleben (ABREU et al., 2013). Obwohl die Konzentration vieler Pathogene in der Umwelt vergleichsweise gering ist, besteht dennoch ein Ansteckungsrisiko, da die infektiöse Dosis für die meisten nosokomialen Infektionserreger relativ gering ist (HOTA, 2004; KRAMER et al., 2006). Mehrere Studien belegen, dass das Infektionsrisiko für Patienten in Räumen, in denen zuvor ein infektiöser Patient lag, erhöht ist (FOSTER & HUTT, 1960; TEUNIS et al., 2008; LAWLEY et al., 2010; WEBER et al., 2013). Die Bedeutung der Flächendesinfektion wird zudem anhand der Reduktion von nosokomialen Infektionsraten veranschaulicht, wenn effektive Desinfektionsmaßnahmen in der Umgebungshygiene ergänzt werden (HUANG et al., 2006; DATTA et al., 2011; NSEIR et al., 2011; SHAUGHNESSY et al., 2011). Hierbei ist eine direkte Verknüpfung schwierig zu evaluieren, da diese Maßnahmen häufig Bestandteil eines Hygienepaketes sind und die Übertragungspfade sehr komplex sein können (HAYDEN et al., 2006; BOYCE et al., 2008; DANCER et al., 2009; CARTER & BARRY, 2011).

Die nosokomiale Infektionskontrolle ist auch ein aufblühendes Thema in der Veterinärmedizin. Faktoren, wie etwa der enge Kontakt zu Fußböden, häufige Kontaminationen mit infektiösen Materialien (z. B. Kot oder Urin) und das Erkundungsverhalten der Tiere mit Nase und Maul, erhöhen den Einfluss von Umweltreservoirs (GEBEL et al., 2013; OTTER et al., 2013). Nosokomiale Infektionen im Veterinärbereich mit beteiligten Umwelthabitaten wurden etwa für multiresistente *E. coli* (MURPHY et al., 2010), *C. difficile* (SANCHEZ et al., 2002) und *A. baumannii* (WEESE & ARMSTRONG, 2003) berichtet.

## **2. Relevante Mikroorganismen im klinischen Alltag**

### **2.1 Nosokomiale Infektionen**

Als nosokomial werden laut § 2 Infektionsschutzgesetz (IfSG) Infektionen bezeichnet, die mit systemischen oder lokalisierten Anzeichen als Reaktion auf Mikroorganismen oder deren Toxine einhergehen und in einem zeitlichen Verhältnis zu einer stationären oder ambulanten medizinischen Behandlung stehen. Die Infektion darf bei der Aufnahme in das Krankenhaus weder vorhanden

noch in ihrer Inkubationsphase sein (BOERLIN et al., 2001). Um auf nationaler und internationaler Ebene Vergleiche über Trends in der Entwicklung von nosokomialen Infektionen anstellen zu können, sind eine Vielzahl von detaillierten Informationen zu den unterschiedlichen Infektionskrankheiten von Nöten. Grundlage dieser Informationen sind in der Medizin meist die vom „Centers for Disease Control and Prevention“ (CDC) in den USA entwickelten Definitionen. Diese wurden ausgehend von den 70er Jahren stetig angepasst und erweitert, sodass sie heute weltweit zu den meist verwendeten Definitionen zählen und in zahlreichen Surveillance-Systemen, wie auch in dem deutschen „Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System“ (KISS) angewendet werden (BUNDESMINISTERIUM DER JUSTIZ UND FÜR VERBRAUCHERSCHUTZ, 2000). Gemäß der CDC-Definitionen werden in die Beurteilung, ob eine Infektion vorliegt oder nicht, klinische Befunde, Laborwerte, andere diagnostische Resultate, wie etwa durch Ultraschall, Röntgen oder CT, und/oder die Diagnosestellung des verantwortlichen Arztes miteinbezogen (ROBERT KOCH-INSTITUT, 2002). Ursache nosokomialer Infektionen sind endogene oder exogene Quellen. Zu letzteren zählen etwa das Gesundheitspersonal, Medizinprodukte oder das Patientenumfeld. Endogene Faktoren beinhalten patienteneigene Körperareale, wie etwa die Haut, Nase oder den Gastrointestinaltrakt. Als nicht nosokomial werden Komplikationen oder Ausbreitungen bereits bestehender Infektionen, reine Kolonisationen und Entzündungen nicht infektiöser Genese angesehen. Zu den Indikatorinfektionen zählen laut CDC-Definitionen in der Humanmedizin postoperative Wundinfektionen, primäre Sepsis, Infektionen der unteren Atemwege, Harnwegsinfektionen und Infektionen des zentralen Nervensystems. Jede dieser Infektionen wird genau definiert; so gilt etwa für postoperative oberflächliche Wundinfektionen, dass diese innerhalb von 30 Tagen nach der OP auftreten und mindestens ein weiteres bestätigendes Kriterium aufweisen müssen (eitriges Sekretion, kultureller Nachweis von Mikroorganismen, klinische Anzeichen und oberflächliche Inzision, oder Diagnose durch den Arzt) (ROBERT KOCH-INSTITUT, 2011).

Das „European Centre for Disease Prevention and Control“ (ECDC) hat 2013 einen Bericht über nosokomiale Infektionen und den Antibiotikaeinsatz in europäischen Krankenhäusern vorgestellt. An dieser Prävalenzstudie nahmen

mehr als 1000 Akutkrankenhäuser in 30 unterschiedlichen Ländern teil. Die ECDC bestätigt darin, dass nosokomiale Infektionen aktuell ein wesentliches öffentliches Gesundheitsproblem darstellen. Schätzungsweise erkrankt jeder 18. Patient (5,7 % aller Patienten) in Europa an jedem beliebigen Tag an einer Krankenhausinfektion. Die Gesamtzahl im Jahr wird in Akutkrankenhäusern zwischen 2011 und 2012 in Europa auf ca. 3,2 Millionen geschätzt. Die höchste Prävalenzrate besitzen hierbei Patienten auf Intensivstationen mit 19,5 %. Am häufigsten wurden Atemwegserkrankungen (Pneumonien 19,4 %, Infektionen der unteren Atemwege 4,1 %), postoperative Wundinfektionen (19,6 %), Harnwegsinfektionen (19,0 %), Septikämien (10,7 %) und Infektionen des Gastrointestinaltraktes (7,7 %; 48 % davon verursacht durch *C. difficile*) gemeldet. Weniger als die Hälfte der 15 000 Meldungen (45,9 %) konnte einen mikrobiologischen Erreger erfassen. Die zehn häufigsten Erreger waren *E. coli* (15,9 %), *S. aureus* (12,3 %), *Enterococcus* spp. (9,6 %), *P. aeruginosa* (8,9 %), *Klebsiella* spp. (8,7 %), koagulasenegative Staphylokokken (7,5 %), *Candida* spp. (6,1 %), *C. difficile* (5,4 %), *Enterobacter* spp. (4,2 %), *Proteus* spp. (3,8 %) und *Acinetobacter* spp. (3,6 %). Bei 85 % der isolierten Mikroorganismen wurden Resistenztests durchgeführt, mit dem Ergebnis einer MRSA-Quote von 41,2 % und einer VRE-Rate von 10,2 %. Gegen Cephalosporine der dritten Generation waren 33,4 % aller Enterobacteriaceae (v. a. *K. pneumoniae*) resistent. Carbapenemresistenzen wurden bei 7,6 % aller Enterobacteriaceae (v. a. *K. pneumoniae*), bei 31,8 % der *P. aeruginosa* Isolate und bei 81,2 % der *A. baumannii* Isolate festgestellt. Als besonders besorgniserregend wird die Entwicklung von multiresistenten gramnegativen Bakterien (MRGN) eingestuft. Diese schränken aufgrund von signifikant ansteigenden kombinierten Resistenzmustern die Behandlungsmöglichkeiten enorm ein (ROBERT KOCH-INSTITUT, 2011).

In der Veterinärmedizin ist das Datenmaterial begrenzt. Die am häufigsten ermittelten nosokomialen Infektionen in der Kleintiermedizin sind laut (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2013) Harnwegsinfektionen, Pneumonien, Septikämien, postoperative Wundinfektionen und infektiöse Durchfallerkrankungen. Pathogene, welche vom Infektionskontrollstandpunkt aus eine besondere Bedeutung in der Kleintiermedizin haben, sind das canine Adenovirus,



*Bordetella bronchiseptica*, feline Calicivirus, *Chlamydomphila felis*, canine Staupevirus, feline Herpesvirus, canine Influenzavirus, *Microsporum canis*, canine Parainfluenzavirus, Parvovirus und das canine respiratorische Coronavirus. Obwohl auch hier eine große Bandbreite von Pathogenen an nosokomialen Infektionen beteiligt sein kann, liegt der Fokus aufgrund von stetig ansteigenden Infektionszahlen, begrenzten Behandlungsmöglichkeiten und potentiellen Zoonoserisiken, ähnlich der Humanmedizin, bei multiresistenten Erregern. Infektionsraten werden dabei ähnlich (bzw. sogar höher) im Vergleich zur Humanmedizin eingeschätzt. Jedoch liegen keine deutschland- oder europaweiten Vergleichsdaten vor, da eine nationale oder internationale Einrichtung zur Erfassung dieser Daten im Kleintierveterinärbereich fehlt. Jedoch wäre durch die Identifikation und Quantifikation nosokomialer Infektionen in entsprechenden Surveillancesystemen eine Evaluierung der Risiko- und Ursachenfaktoren möglich, was einen Grundbaustein für die Entwicklung effektiver Präventions- und Behandlungsstrategien darstellt. So könnten z. B. verbesserte Händehygiene- und Personenschutzstrategien, eine sinnvolle Reinigungs- und Desinfektionspraxis, vorsorgliches Patientenmanagement (wie etwa nötige Isolierungsmaßnahmen), sparsamer Antibiotikaeinsatz und eine konsequente Mitarbeiterausbildung Lösungsansätze dieser Problematik darstellen und in Zukunft helfen, nosokomiale Infektionen erfolgreich zu reduzieren STULL and WEESE (2015).

(STULL & WEESE, 2015) untersuchte in den USA 2006 in einer zwölfwöchigen Multizentrumsstudie an insgesamt vier unterschiedlichen Tierkliniken nosokomiale Infektionsraten und kam zu dem Schluss, dass 16,3 % der 1535 untersuchten Hunde und 12 % der 416 untersuchten Katzen an mindestens einer nosokomialen Infektion während deren Aufenthalt auf Intensivstation erkrankten. Als Risikofaktoren mit einer positiven Assoziation zeichneten sich längere Hospitalisierungszeiten, das Legen eines Urinkatheters, Operationen und die Gabe von antiulzerativen und antibiotischen Medikamenten, mit Ausnahme der perioperativ verabreichten, aus. RUPLE-CZERNIAK et al. (2013) gab an, dass während einer fünf Jahresperiode (2001 - 2006) 82 % von 38 Ausbildungskliniken (v. a. in Nordamerika und Europa) mindestens einen nosokomialen Ausbruch und 45 % mehrere Ausbrüche zu verzeichnen hatten. Diese Zahlen werden vermutlich parallel zur Humanmedizin noch weiter ansteigen, da Faktoren, die zu einer

Zunahme von nosokomialen Infektionsraten in humanmedizinischen Krankenhäusern beitragen, auch in der Tiermedizin immer relevanter werden. Diese Faktoren beinhalten invasiv-medizinische Verfahren, wie z. B. das Legen von Venen- oder Urinkathetern, die Zunahme der Aufenthaltsdauer in medizinischen Einrichtungen, den Anstieg an intensivmedizinischen Tätigkeiten und nicht zuletzt den erhöhten Antibiotikaeinsatz. Nosokomiale Infektionen bedingen hierbei nicht nur erhöhte Morbiditäts- und Mortalitätsraten, verlängerte Krankenhausaufenthalte mit damit verbundenen Kosten, sondern stellen alle Betroffenen aufgrund häufig langer Überlebenszeiten der Erreger in der Umwelt und damit einhergehenden Zoonoserisiken vor eine große Herausforderung.

## 2.2 Wichtige multiresistente Infektionserreger

Multiresistente Erreger (Multi-Drug Resistant Organisms, MDRO) sind häufig an nosokomialen Infektionen beteiligt. Die Multiresistenzproblematik stellt weltweit eine ernstzunehmende Bedrohung für das öffentliche Gesundheitswesen dar, begleitet von enormen Kosten, Behandlungsengpässen und zahlreichen Todesfällen. Multiresistente Bakterien verursachen in der Humanmedizin jährlich schätzungsweise 25.000 Tote und Extrakosten von ca. 1,5 Billionen Euro im Gesundheitssystem in Europa. Das „European Antimicrobial Resistance Surveillance Network“ (EARS-Net) beobachtet derzeit die Entwicklung von insgesamt acht bakteriellen Pathogenen mit Bedeutung für das öffentliche Gesundheitswesen. Diese sind *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus faecium*. Die Entwicklungen von 2010 - 2013 stellt das EARS-Net in dem Surveillance-Report 2013 vor. Zusammenfassend ist in Europa 2013 das vermehrte Auftreten von bestimmten multiresistenten gramnegativen Bakterien (MRGN) (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* und *Acinetobacter* spp.) besonders besorgniserregend. Eine stetige Zunahme der Resistenzlage gegen bestimmte Schlüsselantibiotikagruppen wurde v. a. für *E. coli* und *K. pneumoniae* verzeichnet BENEDICT et al. (2008). In der Veterinärmedizin spielen v. a. multiresistente Organismen, wie *Acinetobacter* spp., *E. coli*, *Enterococcus* spp., *Salmonella* spp., *Staphylococcus* spp. und *Pseudomonas* spp. eine Rolle (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2014). Im Folgenden sind wichtige multiresistente Erreger mit ihren human- und veterinärspezifischen

Besonderheiten aufgeführt (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp.).

*E. coli* ist einer der häufigsten Verursacher von Septikämien, Peritonitis, Harnwegs-, Weichteil- und Gastrointestinaltraktinfektionen. Antibiotikaresistenz ist bei allen Enterobacteriaceae ein wichtiger Aspekt. Mehr als die Hälfte der 2013 gemeldeten humanmedizinischen Isolate war mindestens gegen eine Kontrollantibiotikagruppe resistent. Am häufigsten waren dabei Resistenzen gegen Aminopenicilline und Fluorchinolone. Zusätzlich könnte der Resistenzanstieg gegen mehrere Antibiotikagruppen und die Häufigkeit von extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-produzierenden Isolaten die Lage verschärfen und zu einem vermehrten Carbapenem Einsatz führen (STULL & WEESE, 2015). Multiresistente *E. coli* werden auch häufig von Kleintieren mit dem Kot ausgeschieden (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2014). ESBL- und vor kurzem auch Carbapenemase-produzierende *E. coli* konnten auch bei nosokomialen Infektionen (postoperative Wundinfektionen und Katheter-assoziierten Harnwegsinfektionen) bei Tieren identifiziert werden (MURPHY et al., 2009; WEDLEY et al., 2011).

*P. aeruginosa* ist in der aquatischen Umwelt in Form von Biofilmen allgegenwärtig und stellt alle Beteiligten aufgrund des ubiquitären Vorkommens, der enormen Vielseitigkeit und der intrinsischen Toleranz gegen viele Detergentien, Desinfektionsmittel und Antibiotika vor eine besondere Herausforderung. *P. aeruginosa* ist bei Mensch und Tier ein opportunistischer Krankheitserreger, welcher Pneumonien, Septikämien, Harnwegs-, Haut- oder Ohrinfektionen (z. B. bakterielle Follikulitis, Otitis externa) hervorrufen kann. Antibiotikaresistenzen bei *P. aeruginosa* sind in der Humanmedizin mit über 10 % für alle Kontrollantibiotikagruppen in Europa weit verbreitet und kombinierte Resistenzmuster sind üblich. Ein bedachter Antibiotikaumgang und hohe Standards für Infektionskontrollen sind gerade bei diesem Bakterium essentiell, um einer weiteren Verschlechterung vorzubeugen (SANCHEZ et al., 2002; SIDJABAT et al., 2006; STOLLE et al., 2013; GUERRA et al., 2014).

Die Gattung *Acinetobacter* beinhaltet eine Vielzahl an unterschiedlichen Spezies, welche grob in die klinisch relevante *A. baumannii*-Gruppe (mit *A. baumannii*, *A. pittii* und *A. nosocomialis*) und die nicht *A. baumannii*-Gruppe eingeteilt werden können. Letztere beinhaltet mehrheitlich wenig pathogene Umweltkeime.

Vertreter der *A. baumannii*-Gruppe rufen v. a. bei immunsupprimierten Patienten Infektionen wie Pneumonien, Septikämien, Wund- oder Harnwegsinfektionen hervor (GATORIA et al., 2006; NUTTALL & COLE, 2007; LIN et al., 2012; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2014). Häufige Resistenzmuster weisen diese Bakterien gegen Carbapeneme meist in Kombination mit Resistenzen gegen Fluorchinolone und Aminoglykoside auf (FRANCEY et al., 2000; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2014).

Bei der Gattung *Staphylococcus* spielt in der Humanmedizin v. a. *S. aureus* eine Rolle, welcher fakultativ pathogen ist und schwerwiegende Erkrankungen hervorrufen kann (z. B. pyogene Infektionen oder toxinvermittelte Krankheitsbilder). Seine Oxacillin-resistente Form (Methicillin-resistenter *S. aureus*, MRSA) ist weitläufig bekannt (ca. 70 - 80 % aller klinischen Isolate) und besitzt in Europa nur fünf klonale Abstammungslinien, während hingegen Methicillin-empfindliche *S. aureus* spp. (MSSA) sehr vielfältig sein können (FRANCEY et al., 2000; BOERLIN et al., 2001; ZORDAN et al., 2011; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2014). MRSA-Patienten besitzen eine kombinierte Resistenz gegen alle Beta-Lactam-Antibiotika (Penicilline, Cephalosporine der 1. - 4. Generation und Carbapeneme; Ausnahme: MRSA-wirksame Cephalosporine). Häufig weisen sie zudem Resistenzen gegen weitere Antibiotikaklassen (z. B. Chinolone, Makrolide, Tetracycline, Lincosamide) auf, was die Therapiemöglichkeiten weiter einschränkt. Der europäische Mittelwert für die MRSA-Quote lag laut ECDC 2013 bei 18 %. Obwohl weiterhin eine signifikante Reduktion der MRSA Raten von 2010 bis 2013 beobachtet werden konnte, bleibt MRSA weiterhin eine öffentliche Gesundheitspriorität in Europa (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2014). In der Veterinärmedizin sind in dieser Gattung als am klinisch relevantesten koagulase-positive *S. aureus* und Vertreter der *S. intermedius*-Gruppe, im Besonderen *S. pseudintermedius*, zu nennen (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2014). Bei gesunden Hunden und Katzen sind die Kolonisationsraten mit MRSA eher gering (0 - 7 %) (WEESE & VAN DUIJKEREN, 2010). Opportunistische Infektionen, hervorgerufen durch *S. aureus*, sind bei Tieren am häufigsten (postoperative) Wundinfektionen, Pyodermien, Otitis und

Harnwegsinfektionen (LEFEBVRE et al., 2006; ABRAHAM et al., 2007; WALTHER et al., 2008; KOTTLER et al., 2010). *S. pseudintermedius* kann ebenfalls als fakultativ pathogener Erreger v. a. zu Hautinfektionen, wie etwa Pyodermien, Otitis externa, Wundinfektionen oder Abszessen, führen (BAPTISTE et al., 2005; LEONARD et al., 2006; MORRIS et al., 2006; GRIFFETH et al., 2008). Methicillin-resistente *S. pseudintermedius* (MRSP) Stämme können zunehmend bei Haut- und postoperativen Wundinfektionen isoliert werden (MORRIS et al., 2006). Die Prävalenzrate von MRSP ist jedoch mit Schätzungen um 1,5 - 7 % bei gesunden Hunden (WEESE & VAN DUIJKEREN, 2010; VAN DUIJKEREN et al., 2011; BOND & LOEFFLER, 2012; MOODLEY et al., 2014) und mit bis zu 5 % bei Hunden mit Hautinfektionen relativ gering (GRIFFETH et al., 2008; HANSELMAN et al., 2008; NIENHOFF et al., 2011).

*Enterococcus* spp. gehören zur Normalflora des Gastrointestinaltraktes von Mensch und Tier, können jedoch v. a. bei immunsupprimierten Patienten eine Vielzahl von Krankheiten auslösen, einschließlich Endokarditis, Septikämien und Harnwegsinfektionen, Peritonitis und intraabdominaler Abszesse. Die Mehrzahl klinischer Infektionen werden bei Mensch und Tier durch *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus faecium* hervorgerufen (MORRIS et al., 2010). Enterokokken sind intrinsisch gegen eine große Bandbreite von Antibiotika resistent, einschließlich Cephalosporinen, Sulfonamiden, geringen Konzentrationen von Aminoglykosiden und vielen Beta-Laktam-Antibiotika. Zudem können sie gegen diverse andere Antibiotikaklassen Resistenzen erwerben (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2014). In der Veterinärmedizin sind Resistenzen gegen Cephalosporine und Fluorchinolone häufig (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2014). Hohe Resistenzzahlen, v. a. gegen Vancomycin (VRE) und Aminoglykoside, und lange Überlebenszeiten in der Umwelt stellen hier alle Beteiligten vor eine besondere Herausforderung (PAPICH, 2013).

### 2.3 Zoonotische Infektionen

Unter zoonotischen Infektionen versteht man Infektionskrankheiten, welche von Bakterien, Parasiten, Pilzen, Prionen oder Viren verursacht und wechselseitig zwischen Tieren und Menschen übertragen werden können (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2014; STULL & WEESE, 2015). Zu den Erregern zählen neben Pilzen, Parasiten, Viren und

Bakterien auch andere biologische Arten, wie etwa Prionen. Weltweit gibt es insgesamt über 200 unterschiedliche zoonotische Krankheiten. Die Übertragungswege können entweder direkt (z. B. Hautkontakte, Bisse) oder indirekt (z. B. Stechmücken, Lebensmittel) sein. Zoonotische Infektionen spielen in Deutschland und weltweit eine sehr große Rolle. Klimatische, ökologische und demographische Entwicklungen, aber auch Veränderungen in der Tierhaltung (eingeschlossen der Massentierhaltung) und Ernährung führen zu einer Steigerung der Erkrankungsfälle. Zudem treten immer wieder neue Krankheitsbilder, wie z. B. Ebola, Geflügelinfluenza oder SARS, in den Vordergrund. Das seit 2001 in Kraft getretene Infektionsschutzgesetz (IfSG) regelt die Überwachung einer Reihe von zoonotischen Infektionserkrankungen durch deren Meldepflicht und garantiert somit einen Überblick über deren Entwicklung. Zusätzlich gibt es auch auf der Ebene der EU unterschiedliche Überwachungsmechanismen, wie z. B. die 2003 in Kraft getretene Zoonosen-Überwachungsrichtlinie. Zu den Krankheiten bzw. Mikroorganismen, welche nach der EU Zoonosen-Überwachungsrichtlinie registriert werden müssen, zählen u. a. die Brucellose, Campylobakteriose, Echinokokkose, Listeriose, Salmonellose, Trichinellose und Tuberkulose (hervorgerufen durch *M. bovis*). Am häufigsten treten in Deutschland Campylobakteriose, gefolgt von Salmonellose, Yersinose und Erkrankungen verursacht durch EHEC, als bakteriell bedingte zoonotische Infektionen auf. Zu den häufigsten parasitären Zoonosen zählen Giardiose und Kryptosporidiose (TMF - TECHNOLOGIE- UND METHODENPLATTFORM FÜR DIE VERNETZTE MEDIZINISCHE FORSCHUNG E.V., 2016).

Mit den aus den Überwachungssystemen gewonnenen Daten zu Erkrankung, Erreger und eventuell vorhandenen Resistenzen, hofft die EU die Quellen und Trends besser nachvollziehen zu können. Mehr als die Hälfte der an das RKI gemeldeten Infektionserkrankungen sind zoonotischer Genese, jedoch ist die Datenlage für viele Erreger bei weitem noch nicht ausreichend. Hierfür bedarf es einer engen Zusammenarbeit zwischen Veterinär- und Humanmedizin, um in Zukunft besser auf nationaler sowie auf internationaler Ebene agieren zu können (ALPERS et al., 2004; TMF - TECHNOLOGIE- UND METHODENPLATTFORM FÜR DIE VERNETZTE MEDIZINISCHE FORSCHUNG E.V., 2016).

## 2.4 Biofilme

Biofilme sind komplexe Strukturen aus Mikroorganismen verbunden mit einer Oberfläche und eingebettet in eine selbstproduzierte biopolymere Matrix (ALPERS et al., 2004; TMF - TECHNOLOGIE- UND METHODENPLATTFORM FÜR DIE VERNETZTE MEDIZINISCHE FORSCHUNG E.V., 2016). Sie beherbergen häufig unterschiedliche Mikroorganismen, wie Hefen, Algen, Pilze (z. B. *Candida* spp., *Aspergillus* spp.) oder Bakterien (z. B. *Pseudomonas* spp., *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., Serovare von *Salmonella* spp.), können jedoch auch nur aus einer Mikroorganismenspezies bestehen (JONES et al., 1969; COSTERTON et al., 1995; HOIBY et al., 2010). Hervorrufen können Biofilme chronische Infektionen, einschließlich Fremdkörperinfektionen, mit Gewebeschäden und Entzündungen. Diese halten häufig trotz Immunreaktionen, Entzündungsantworten des Körpers und Antibiotikatherapien lange an (O'TOOLE et al., 2000; RAMAGE et al., 2014). Die Biofilmformation kann auf einer Reihe von Körperoberflächen auftreten. Beschrieben sind diese auf Zähnen (COSTERTON et al., 2003; BJARNSHOLT et al., 2009), in den Lungen von Patienten mit cystischer Lungenfibrose (chronische Bronchopneumonie) (AAS et al., 2005), bei Gelenkinfektionen infolge von Prothesen und chronischer Osteomyelitis (BJARNSHOLT et al., 2009), im Mittelohr bei Patienten mit chronischer Otitis media (GRISTINA et al., 1985; TRAMPUZ & ZIMMERLI, 2005; TORNERO et al., 2013), an Herzklappen (Endokarditis) (HALL-STOODLEY et al., 2006), bei intravenösen Venenkathetern und Stents (HOIBY et al., 1986), bei chronischer Rhinosinusitis (TENKE et al., 2012; RICHARDS et al., 2014) und bei chronischen, nicht heilenden Wunden (SANDERSON et al., 2006). Natürliche abiotische Umweltoberflächen, wie etwa Mineralien oder Grenzflächen von Luft und Wasser, oder biotische Flächen in der natürlichen Umwelt, wie z. B. Pflanzen, andere Mikroorganismen oder Tiere, können Biofilmen als Besiedlungsort dienen. Bei Mensch und Tier sind Keime, die bakterielle Biofilme produzieren können, als pathogene und nicht pathogene Besiedler in der Haut-, Nasen-, Intestinalflora und oropharyngealen Flora anzutreffen (VYAS & WONG, 2015).

Biofilme entstehen durch das initiale reversible Anheften planktonischer, frei beweglicher Zellen an eine Oberfläche. Im nächsten Schritt wird diese Anhaftung

irreversibel und die Vermehrung beginnt. Bakterien formen Mikrokolonien und eine extrazelluläre Matrix wird aufgebaut. So nimmt der Biofilm an Größe zu und erreicht sein vollentwickeltes Stadium. Danach lösen sich bestimmte Zellareale wieder ab und wechseln erneut in die planktonische Lebensform (KARATAN & WATNICK, 2009). Unterschieden wird bei der Biofilmbildung zwischen Monolayer-Biofilmen, bei welchen einzelne Zellen in einer dünnen Schicht mit der Oberfläche verbunden sind, und Multilayer-Biofilmen, bei denen die Bakterien als Zellcluster mit der Oberfläche und den benachbarten Mikroorganismen verbunden sind. Des Weiteren werden Biofilme durch begünstigende Umweltbedingungen, durch essentielle Genprodukte, durch bestimmte Gene, durch die Biofilmarchitektur und nicht zuletzt auch durch extrazelluläre Stoffe der Biofilmmatrix charakterisiert. Dies erklärt und bedingt eine Vielzahl unterschiedlicher Biofilme, die selbst bei einer bestimmten Bakterienspezies sehr variabel sein kann. Unterschieden werden können drei Arten von adhäsiven Strukturen: vorgeformte Adhäsine, wie Flagellen oder Pili, unter bestimmten Bedingungen synthetisierte Adhäsine, wie etwa LapA Proteine bei *P. aeruginosa*, und spezielle Adhäsine zur permanenten Adhäsion (KOSTAKIOTI et al., 2013). Der Multilayer-Biofilm entsteht, wenn sich Bakterien an Oberflächen und zudem aneinander heften können. Dies geht häufig aus Monolayer-Biofilmbildungen hervor und hierzu ist eine äußere adhäsive bakterielle Oberfläche nötig. Die Oberfläche von gramnegativen Bakterien z. B. ist normalerweise von O-Antigenen besetzt, welche aufgrund ihrer negativen Ladung zu Abstoßungsreaktionen führen würden. Durch Mutationen der O-Antigen Synthesegene, dem Zusatz von bivalenten Kationen oder der Synthese einer adhäsiven Matrix kann diese negative Ladung neutralisiert werden und eine Anhaftung wird möglich (KARATAN & WATNICK, 2009).

Die Regulierung der Biofilmbildung wird durch eine Reihe von Umweltsignalen beeinflusst. Neben mechanischen Signalen, die das Bakterium dazu bewegen, von der planktonischen in die sessile Form zu wechseln, spielen Nährstoff- und metabolische Reize eine Rolle, wie etwa Glukose, Indol oder Polyamine. Zudem findet eine Beeinflussung über anorganischen Moleküle, wie Eisen oder Phosphat, die Osmolarität, vom Wirt ausgehende Signale, oder über Antibiotika oder Quorumsignale statt. Quorumsensing befähigt die Zellen deren Genexpression in zelldichteabhängiger Art zu koordinieren und ermöglicht eine



interzelluläre Kommunikation. Aktiviert werden solche Kreisläufe durch sog. Autoinducer, die von den Bakterien synthetisiert werden und sich im extrazellulären Umfeld anhäufen können. Sobald Autoinducerraten ein bestimmtes Level erreichen, wird eine Kaskade in Betrieb gesetzt (KARATAN & WATNICK, 2009).

Die Zellen in einem Multilayer-Biofilm produzieren eine Reihe von Molekülen, welche zur Ausbildung einer Biofilmmatrix führen (KARATAN & WATNICK, 2009). Diese Matrix besitzt eine Reihe von Funktionen, wie etwa Adhäsions-, strukturelle und protektive Integritätsaufgaben und Transfermöglichkeiten von kleinen Molekülen in und aus dem Biofilm (KARATAN & WATNICK, 2009). Aufgebaut ist die Matrix v. a. aus Wasser und ihr Wassergehalt wird auf bis zu 97 % geschätzt (FLEMMING & WINGENDER, 2010). Weitere Bestandteile wie Polysaccharide, Proteine, DNA, Tenside, Lipide, Glykolipide, Membranvesikel und Ionen, wie z. B. Calcium, können abhängig von Spezies und Situation in die Matrix eingelagert werden. Ein Hauptanteil der meisten Biofilmmatrizen sind Exopolysaccharide, Zellulose oder Alginate, welche für die Bildung von Multilayer-Biofilmen und in manchen Fällen auch für die Anhaftung nötig sind. Zu den Proteinen zählen Pili und Fimbrien mit adhäsiven Eigenschaften, Biofilm-assoziierte Proteine (Bap), die häufig die Biofilmbildung fördern, Lecithin und andere zuckerbindende Proteine, und Autotransporter, welche eine verbesserte interzelluläre Kommunikation ermöglichen. Die extrazelluläre DNA (eDNA) der Matrix ist bei einer Reihe von Bakterienspezies eine wichtige Komponente für die Integrität des Biofilmes (SUTHERLAND, 2001). Quelle dieser extrazellulären DNA ist höchstwahrscheinlich freigewordene genomische DNA nach Zelllyse (KARATAN & WATNICK, 2009).

Die Architektur von Biofilmen wird darüber hinaus von physikalischen Bedingungen, wie etwa der Fließgeschwindigkeit des Mediums und biologischen Faktoren, wie Medienzusammensetzung, Tensiden, Motilitätsfaktoren und Quorumsensing-Effekten bestimmt (ALLESEN-HOLM et al., 2006). Man unterscheidet hierbei zwei Hauptklassen: Biofilme, die eine unregelmäßige, pilzähnliche, von Hohlräumen (meist Wasserkanälen) durchzogene Struktur mit wenig Oberflächenkontakt aufweisen, und flache Biofilme mit blattartigen dichten Lagen und viel Kontakt zur Oberfläche. Das Leben in Biofilmen ist für Mikroorganismen häufig von Vorteil. Dennoch kann diese Mikroumwelt unter

bestimmten Bedingungen zur Last werden und Zellen kehren wieder in ihre planktonische Lebensform zurück. Dies ist aufgrund von passiven Faktoren, wie etwa hydrodynamische Parametern (z. B. Scherkräften), möglich, oder aber kann aktiv durch Signale bzw. regulatorische Netzwerke induziert werden. Zu letzteren gehören Veränderungen bestimmter Nährstoffgehalte, Stickoxid- und Sauerstoffabbau, und bestimmte Quorumsensing-Signale. Biofilmauflösungen können zudem durch Zelltod oder Zelllyse von Subpopulationen in Makrokolonien beschleunigt werden (PUREVDORJ et al., 2002).

Persisterzellen können häufig in Biofilmen gefunden werden. Persister sind sich nichtteilende, multiresistente Zellen, die genotypisch mit dem Rest der Bakterienpopulation identisch sind (KARATAN & WATNICK, 2009). Sie sind in allen bakteriellen Kulturen vorhanden, jedoch ist ihre Zahl während der log-Phase im Gegensatz zur stationären Phase und in Biofilmen gering (LEWIS, 2005). Persister erklären die zum Teil in Biofilmen bis zu 100- bis 1000-Mal höheren Antibiotikaresistenzwerte im Vergleich zu planktonischen Bakterien (KARATAN & WATNICK, 2009). Die stationäre Phase eines Biofilmes ist durch langsames Wachstum, hohe Sauerstoffkonzentrationen an der Oberfläche und eine geringe Konzentration im Zentrum gekennzeichnet (NICKEL et al., 1985; ANWAR & COSTERTON, 1990; GILBERT et al., 1990; MOSKOWITZ et al., 2004; BJARNSHOLT et al., 2007). Das Wachstum, die metabolische Aktivität und Proteinsynthese läuft in diesem Verbund geschichtet ab, wobei ein Nährstoff- und Sauerstoffgradient vom Gipfel bis zum Grund des Biofilmes besteht. Die hierbei verringerte metabolische Aktivität und verlängerte Vermehrungszeit tragen zu Antibiotikaresistenzmechanismen bei. Zudem ist die Mutationshäufigkeit in Biofilmen signifikant höher als in planktonischen Zellen und es findet ein vermehrter horizontaler Gentransfer statt (ASHBY et al., 1994; COSTERTON et al., 1995; SPOERING & LEWIS, 2001; FUX et al., 2005). Dies trägt, ebenso wie bestimmte Quorumsensing-Mechanismen, konventionelle Resistenzfaktoren, wie chromosomale

$\beta$ -Laktamasen, Mutationen in den antibiotischen Zielmolekülen der Bakterien und vermehrte Produktionen von Effluxpumpen dazu bei, dass Bakterien in Biofilmen schnell multiresistent werden.

Der Biofilmbildung sollte am besten durch eine frühzeitige antibiotische Therapie vorgebeugt werden. Als vielversprechend wird der Einsatz von

matrixauflösenden Enzymen (wie z. B. Alginatlyasen oder DNasen) und Quorumsensing-Hemmer beurteilt (MOLIN & TOLKER-NIELSEN, 2003; DRIFFIELD et al., 2008). Doch Biofilme sind nicht nur im Organismus durch ihre erhöhte Antibiotikaresistenz schwierig zu eliminieren, sondern häufig sind auch die meisten Desinfektionsmaßnahmen in der Umwelt wenig hilfreich, da Mikroorganismen in ihrem Verbund sehr gut geschützt sind und verschiedenen Faktoren, wie Austrocknung oder UV-Licht, trotzen können. Alternative Methoden, wie etwa Änderungen von Materialeigenschaften, Geräteapplikatoren (elektrisch, Ultraschall, photodynamisch, usw.) und Nanomaterialien (Liposomen, Polymere, Metallnanopartikel und Phagentherapie) sind hierbei vielversprechend (HOIBY et al., 2010).

### **3. Prüfrichtlinien für chemische Desinfektionsmittel**

#### **3.1 Unterschiedliche Gremien**

Es gibt unterschiedliche Gremien in Deutschland, welche für die Zertifizierung chemischer Desinfektionsmittel zuständig sind. In der Humanmedizin ist an erster Stelle der „Verbund für Angewandte Hygiene e. V.“ (VAH) zu nennen. Dieser erfasst auf der Grundlage der Standardmethoden zur Prüfung chemischer Desinfektionsverfahren der „Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie e. V.“ (DGHM) und in Zusammenarbeit mit unterschiedlichen Berufsverbänden bzw. Fachgesellschaften, wie z. B. der „Gesellschaft für Hygiene, Umweltmedizin und Präventivmedizin“ (GHUP) oder der „Deutschen Gesellschaft für Krankenhaushygiene“ (DGKH), Methoden zur hygienischen Händewaschung und prophylaktischen Desinfektion. Zu den prophylaktischen Desinfektionsverfahren zählen die Händedesinfektion, Hautantiseptik, Flächen-, Instrumenten- und Wäschedesinfektion. In der vom VAH publizierte Desinfektionsmittelliste werden hygienische Händewaschprodukte und Desinfektionsverfahren mit gesicherter levurozider und bakterizider (einschließlich MRSA, VRE oder MRGN) Wirkung, wie auch mit gesondert deklarerter mykobakterizider, tuberkulozider und fungizider Wirkung, publiziert. Bestätigt werden muss die geforderte desinfizierende Wirkung hinsichtlich der angegebenen Einwirkzeit und Konzentration von zwei unabhängigen Gutachtern entsprechend des zukünftigen Verwendungsbereiches. Hierbei werden keine weiteren Angaben, wie etwa hinsichtlich Reinigungseffekt oder

Hautverträglichkeit, gemacht. Angewendet wird die Desinfektionsmittelliste des VAH in der routinemäßigen und prophylaktischen Desinfektion in ärztlichen oder zahnärztlichen Praxen, Krankenhäusern, in öffentlichen Bereichen, wie Schulen oder Sportstätten, und anderen Gebieten, bei denen eine Infektionsübertragung möglich ist (KASIMANICKAM et al., 2013).

Neben dem Verband für angewandte Hygiene veröffentlicht das „Robert Koch-Institut“ (RKI) eine „Liste der vom Robert Koch-Institut geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren“ (Stand: August 2013) (VERBUND FÜR ANGEWANDTE HYGIENE (VAH) E.V., 2014). Bei behördlich angeordneten Entseuchungen (Desinfektionen) dürfen gemäß § 18 Infektionsschutzgesetz (IfSG) nur Mittel und Verfahren angewendet werden, welche vom RKI auf ihre Wirksamkeit getestet wurden und in die oben genannte Liste aufgenommen wurden. Zudem sind die Mittel und Verfahren auf ihre Unbedenklichkeit für Umwelt und Gesundheit durch das „Umweltbundesamt“ (UBA) bzw. das „Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte“ (BfArM) zu prüfen. (ROBERT KOCH-INSTITUT, 2013c). Beachtet werden muss, dass bestimmte Desinfektionsmittel, wie z. B. Hände-, Instrumenten- bzw. Flächen- und Wäschedesinfektionsmittel, auch anderen Gesetzen bzw. Verordnungen, wie etwa dem Arzneimittel-, Medizinproduktegesetz oder der Biozid-Verordnung, unterliegen. Als einzige Liste prüft das RKI neben chemischen bzw. chemothermischen, auch physikalische Desinfektionsverfahren (Verbrennen, Kochen, Dampfdesinfektionsverfahren). Je nach Anwendungsgebiet (u. a. hygienische Hände-, Flächen-, Instrumenten-, Abfall- oder Wäschedesinfektion, Raumbegasung) sind zum Wirkungsnachweis mikrobiologische Sachverständigengutachten mit vorgegebenen Testorganismen und Prüfmethode einzureichen. Unterschieden werden unterschiedliche Wirkungsbereiche: A (wirksam gegen Bakterien, einschließlich Mykobakterien und Pilze) bzw. B (wirksam gegen Viren). Wirkungsbereich B umfasst viruzide (behüllte und unbehüllte Viren) bzw. begrenzt viruzide (nur behüllte Viren) Wirksamkeiten. Die Prüfmethode umfassen quantitative Suspensionstestungen (einschließlich Neutralisationsverfahren) und praxisnahe Prüfungen. Die Desinfektionsmittelliste des VAH und RKI unterscheiden sich erheblich hinsichtlich Prüfverfahren und Bewertungskriterien (Prüfanschmutzung, Prüfkörper, Testorganismen) und es ergeben sich aufgrund der unterschiedlichen Aufgabenstellung der Listen meist

höhere Konzentrationen bzw. verlängerte Einwirkzeiten für die im RKI gelistete Desinfektionsmittelverfahren (BUNDESMINISTERIUM DER JUSTIZ UND FÜR VERBRAUCHERSCHUTZ, 2000).

Im tiermedizinischen Bereich vergibt die „Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e. V.“ (DVG) das Siegel „DVG-gelistet“ an Desinfektionsmittel, welche in den drei Desinfektionsmittellisten (Tierhaltung, Lebensmittelbereich und Großküchen, Tierärztliche Praxis und Tierheime) erscheinen. Aufgenommen werden Desinfektionsmittel in unterschiedliche Listen (Tierhaltung, Tierärztliche Praxis, Bereich Fleischgewinnung und Lebensmittel tierischen Ursprungs (außer Milch), Milchbereich, Großküchen oder Desinfektionsverfahren) und in einen oder mehrere Wirkungsbereiche (antibakteriell, antiviral, antimykotisch, antiparasitär). Bei Desinfektionsmitteln zur hygienischen Händewaschung bzw. -desinfektion wird auf die entsprechende Liste des VAH verwiesen. Die Testorganismen sind beim DVG an die jeweiligen EN-Prüfnormen angepasst. Bei der Desinfektionsmittelprüfung wird besonders Wert auf die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse (Wiederholungen innerhalb der Prüfung, unabhängiges Zweitgutachten), die Erfassung der minimalen Hemmkonzentration (MHK), die Bestimmung wirksamer Neutralisationsmittel, den Nachweis biozider Grenzwerte und die Ermittlung von Eiweiß- und Kältefehler gelegt. Nicht in die Prüfung miteinbezogen werden u. a. Fragen zur Rückstandsproblematik, Umwelt- und Lebensmittelbelastung, Material- oder Tierverträglichkeit. Diese werden u. a. durch lebensmittelrechtliche Vorschriften geregelt und unterliegen der Eigenverantwortlichkeit des Herstellers. Im Falle der Bekämpfung anzeigepflichtiger Tierseuchen können die gelisteten Desinfektionsmittel der DVG zur Auswahl der Präparate herangezogen werden. Diese Entscheidung obliegt jedoch in erster Linie dem zuständigen Veterinäramt und muss den geltenden tierseuchenrechtlichen Vorschriften entsprechen (ROBERT KOCH-INSTITUT, 2013b, 2013a, 2013c).

Für die Hersteller existiert in Deutschland keine Pflicht, Desinfektionsmittel in entsprechende Listen eintragen zu lassen und zudem ist der Listeneintrag keine Bedingung für die Marktzulassung. Jedoch wird dies von den unterschiedlichen Gremien sehr angeraten, da hierbei die Prüfverfahren von unabhängiger Seite durch Behörden oder Sachverständigengutachten bestätigt werden müssen und dies mehr Sicherheit in der Desinfektionsmittelprüfung garantiert. Dem Anwender

ist die Wahl des Desinfektionsmittels selbst überlassen, sofern es sich nicht um behördlich angeordnete Verfahren, wie Entseuchungen, Entwesungen oder Maßnahmen gegen Krankheitserreger übertragende Wirbeltiere entsprechend § 18 Infektionsschutzgesetz handelt (DVG, 2015g, 2015h, 2015i).

### **3.2 Prüfmechanismen gemäß DVG**

Es gibt ein europaweites Bestreben, Prüfmechanismen für chemische Desinfektionsmittel zu vereinheitlichen. In drei unterschiedlichen Arbeitsgruppen (Humanmedizin, Veterinärmedizin, Nahrungsmittel- und institutioneller Bereich) findet das Normenwerk CEN TC 216 seine Anwendung. Auf dessen Basis wurden die meisten Desinfektionsmittelbereiche bereits mit entsprechenden Prüfverfahren abgedeckt. Diese beinhalten drei Ebenen der Prüfung: Phase 1, 2 und 3. Phase 1 umfasst Normen für Laborversuche (Quantitative Suspensionsversuche), geeignet für die Grundstoffindustrie und die Entwicklung von Desinfektionsmitteln. Phase 2 ist in zwei Stufen aufgeteilt, wobei die erste Stufe Normen für anwendungsspezifische Suspensionsversuche (mit z. B. realitätsnahen Einsatztemperaturen und Eiweißbelastungen) enthält und die zweite Stufe Keimträgertestungen auf praxisrelevanten Flächen mit Belastungssubstanzen bei realitätsnahen Temperaturen und Einwirkzeiten erfasst. Phase 3 wird Normen für die Realisierung von Feldversuchen beinhalten. Diese Phase ist aufgrund der schwierigen Umsetzbarkeit, Standardisierbarkeit und fehlenden Daten noch kein Bestandteil des Arbeitsplanes des TC 216. Die bereits entwickelten Normen hingegen finden sich in den DVG-Richtlinien wieder (BUNDESMINISTERIUM DER JUSTIZ UND FÜR VERBRAUCHERSCHUTZ, 2000; ROBERT KOCH-INSTITUT, 2013b).

Bei der Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln ist eine einheitliche und reproduzierbare Methodik von Nöten, die meist im Labor stattfindet, da sich entsprechende Prüfsituationen häufig nicht wiederholt einheitlich unter Praxisbedingungen durchführen lassen. Dennoch wurde bei den DVG-Richtlinien versucht, durch möglichst praxisnahe Modelle der Realität Rechnung zu tragen. Aufgrund der Vielzahl an Mikroorganismen und möglichen Materialien werden jeweils repräsentative Indikatoren ausgewählt. Die DVG-Vorschriften orientieren sich in ihrer Durchführung an den Mehrstufenmodellen der DIN EN-Normen und deren Konformität stellt eine Voraussetzung für eine Aufnahme in die Desinfektionsmittellisten dar. In vielerlei Hinsicht gehen die Anforderungen der

DVG sogar noch über die DIN EN-Normen hinaus. So wird vor Beginn der Suspensions-, Keimträgerversuche oder praxisnahen Testungen zur Evaluierung der fungiziden, bakteriziden oder sporoziden Wirkung des Desinfektionsmittels die Definition der „Minimalen Hemmkonzentration“ (MHK) im Verdünnungstest gefordert. Durch die Ergänzung der MHK möchte die DVG Desinfektionsmittelkonzentrationen vermeiden, bei denen möglicherweise noch Keimvermehrungen stattfinden könnten und somit der Entwicklung von Desinfektionsmittelresistenzen und potentiellen Co-Selektionen von Antibiotikaresistenzen entgegenwirken. Im Bereich der Viruzidieprüfung wird eine Bestimmung der zytotoxischen Desinfektionsmittelkonzentration vorgeschaltet. Zudem erweitert die DVG den Normenumfang durch die Festsetzung zweier voneinander unabhängigen Desinfektionsmittelprüfungen. Der Hersteller muss demnach ein Gutachten nach DVG-Bestimmungen, d. h. von einem im Ausschuss für Desinfektion anerkannten unabhängigen Fachwissenschaftler anfertigen lassen, während der DVG-Ausschuss im nächsten Schritt nach Vorlage dieses Gutachtens eine Bestätigungsuntersuchung (Eckwertprüfung) durchführt. Dies garantiert eine höhere Sicherheit bei der Festlegung der Prüfergebnisse und Formulierung von Verbraucherempfehlungen. Zusätzlich schreibt die DVG das Mitführen von Referenzsubstanzen in den jeweiligen Testungen vor. Richtlinien der DVG gehen somit häufig über die geforderten Prüfmechanismen der DIN EN-Normen hinaus und ermöglichen dem Hersteller auf der Grundlage von Erfahrungen aus der Forschung eine sinnvolle Durchführung der Desinfektionsmittelprüfungen entsprechend praktischer Anwendungssituationen (DVG, 2015j).

Sofern nicht anders bestimmt, verlangt die Eintragung eines Desinfektionsmittels als „DVG gelistet“ somit die Erfassung der MHK, geeigneter Neutralisationsmittel, biozider Grenzwerte und die wiederholte Durchführung von Verdünnungs-, Suspensions- und Keimträgertestungen. Die Versuchsdurchführung erfolgt in unabhängigen Kontrollansätzen an unterschiedlichen Tagen. Obligatorischen Testorganismen der Bakterizidie sind *S. aureus*, *Enterococcus hirae* und *P. aeruginosa*. Im Bereich Tierhaltung und Tierärztliche Praxis zählt hierzu zudem *Proteus vulgaris* bzw. im Lebensmittelbereich *E. coli*. Fakultative bakterielle Testorganismen stellen im Gebiet Tierhaltung *Rhodococcus equi*, *Salmonella choleraesuis* und im Gebiet Lebensmittel *Salmonella enterica*

*Typhimurium* (Fleisch, Großküche) oder *Lactobacillus brevis* (Milch) dar. Bestandteil der Testkeime im Bereich Levurozidie bzw. Fungizidie sind *Candida albicans* bzw. *Aspergillus brasiliensis* und *Candida albicans*. Die Testorganismen der Viruzidie sind nachfolgend im jeweiligen Bereich gesondert aufgeführt. Desinfektionsmittel werden nach deren Prüfung in entsprechenden DVG-Listen publiziert. Diese beinhalten gelistet nach Desinfektionsmittelname, Hersteller und Wirkstoff die erforderliche Temperatur und Einwirkzeit für deren Einsatz (DVG, 2015h).

Die DVG-Liste im Bereich Tierhaltung beinhaltet aktuell insgesamt 87 geprüfte und wirksame Desinfektionsmittel (Stand Mai 2015, 13. Liste nach DVG-Richtlinien; 4. Auflage). In der Bakterizidie wird hierbei zwischen spezieller und vorbeugender Desinfektion unterschieden. Die erstere umfasst die Bekämpfung spezieller bakterieller Infektionserreger, ausgenommen der gesondert gelisteten Mykobakterien und Bakteriensporen (bisher nicht besetzt). Die vorbeugende Desinfektion hingegen kommt in der Regel in Form von Hygieneprogrammen zur allgemeinen Reduzierung des Keimgehaltes zum Einsatz. Da aktuelle Viruzidieprüfungen erst nach Inkrafttreten entsprechender EN-Normen angepasst werden, ist die momentane Testung noch an den Richtlinien von 2000 (3. Auflage) orientiert und erfolgt in zwei Schritten (Vor- und Hauptprüfung). Während in der Vorprüfung v. a. die Wirkung im Suspensionstest mit und ohne Eiweißbelastung getestet wird, erfolgt im Anschluss in der Hauptprüfung die Testung auf Holzkeimträgern mit Eiweißbelastung. Zu den obligaten Testkeimen zählen zwei unbehüllte Viren (ECBO-Virus, Reovirus Typ 1) und zwei behüllte Viren (Newcastle-Disease-Virus (ND-Virus), Vaccinia-Virus). Diese vier Viren sind Prüfungsbestandteil für die Bezeichnung „viruzid“, während hingegen die „begrenzt viruzide“ Prüfung nur die Testung mit ND- und Vaccinia-Virus erfordert. Zudem sind Präparate mit antiparasitärer Wirkung gegen Würmer (Testorganismus: *Ascaris suum*) und Einzeller (Testorganismus: *Eimeria tenella*) aufgeführt (DVG, 2013b, 2015f).

Im Bereich Lebensmittel umfasst die DVG-Liste aktuell 36 Handelspräparate (Stand Mai 2015, 8. Liste nach DVG-Richtlinien (4. Auflage)). Diese umfasst unterschiedliche Listenteile: Teil A - Fleischgewinnung und Lebensmittel tierischen Ursprungs (außer Milch), Teil B - Milchbereich und Teil C - Großküchenbereich. Zudem erfolgt eine Einteilung in „wenig belastete Bereiche“



(Grundbelastung) und „belastete Bereiche“ (hohe Belastung, im Bereich Fleischgewinnung und Lebensmittel tierischen Ursprungs außer Milch). In den zwei Bereichen sind Mittel mit bakterizider, levurozider, fungizider und viruzider Wirksamkeit aufgelistet. Die Einwirkzeiten und Konzentrationsangaben werden auf der Basis repräsentativer Prüfbedingungen mit speziellen Eiweißbelastungen getestet. Die Viruzidieprüfung erfordert im Großküchen- und gering belasteten Lebensmittelbereich die Testung mit lebensmittelassoziierten Noroviren (Murines Norovirus) im Keimträgertest (DVG, 2015e, 2015b, 2015f).

Im Bereich Tierärztliche Praxis und Tierheime erschien Mai 2015 die 1. Desinfektionsmittelliste (4. Auflage) mit insgesamt fünf Handelspräparaten (Stand: 03.06.2015). Auch Gutachten des VAH werden im Bereich der vorbeugenden Desinfektion nach Prüfung durch den DVG-Ausschuss akzeptiert. Zur Desinfektion von Außenbereichen (Ausläufe, Zwinger) werden aufgrund häufig höherer Verschmutzungsgrade Handelspräparate aus der Desinfektionsmittelliste für den Tierhaltungsbereich angeraten. In der Desinfektionsmittelprüfung wird zwischen vorbeugender und spezieller Desinfektion unterschieden. Vorbeugende Desinfektionsmaßnahmen stellen allgemeine hygienische Maßnahmen zur Reduktion des Keimgehaltes auf Gegenständen und in Tierhaltungen dar. Spezielle Desinfektionsmaßnahmen hingegen finden bei bestimmten Erregern statt. Hierzu zählen Parvoviren, Pilze (Prüforganismus: *Aspergillus brasiliensis*) und Giardien. Anzunehmen ist zudem eine Wirksamkeit gegen die meisten unbehüllten und behüllten Viren bei Listung im Bereich „Parvoviren“ bzw. eine Wirksamkeit gegen Schimmelpilze und die meisten Hautpilze (Ausnahme: *M. canis*) bei Listung im Bereich „Pilze“. Viruzidieprüfungen werden mit dem Testkeim murines Parvovirus in einem Keimträgerversuch durchgeführt. Die Desinfektionsmittelprüfungen finden stets mit einer Grundbelastung aus bovinen Serumalbumin (3 g/l) statt (DVG, 2013b, 2015a, 2015d).

Chemische Desinfektionsmittel müssen in der Prüfung laut DVG eine bestimmte Reduktionsrate erfüllen. Diese wird für die jeweilige Prüfung und das jeweilige Keimspektrum individuell definiert. Vorgeschrieben sind, neben bestimmten Ausgangskeimzahlen und Belastungssubstanzen, definierte Temperaturen und Einwirkzeiten des chemischen Desinfektionsmittels. Im Bereich der Tierärztlichen Praxis liegt die Ausgangskeimzahl der Testkeimsuspension im Keimträgertest in

der Bakterizidie bei  $1,5 - 5,0 \times 10^9$  KbE/ml, in der Fungizidieprüfung bei  $1,5 - 5,0 \times 10^8$  KbE/ml und bei murinen Parvoviren bei  $10^{7,5}$  KID<sub>50</sub>/ml. Die geforderten Reduktionsraten liegen in der Bakterizidie im Keimträgertest bei  $\geq 4$  log-Stufen, in der Levurozidie- und Fungizidieprüfung bei  $\geq 3$  log-Stufen und bei murinen Parvoviren bei  $\geq 4$  lg-Stufen. Diese Kriterien müssen bei allen geprüften Keimen in drei zeitlich voneinander unabhängigen Testansätzen erfüllt werden.

### **III. MATERIAL UND METHODEN**

#### **1. Dampfreinigungsgerät**

##### **1.1 Technische Daten**

Für die Studie wurde das Dampfreinigungsgerät AFG 6000 der Firma Asum Favorit® GmbH verwendet. Der Dampfsauger besitzt eine Größe von 460 x 320 x 350 mm. Der Frischwasserbehälter fasst ca. 0,8 l und der Schmutzwasserbehälter maximal 0,8 l. Im Kessel wird ein Dampfdruck von 400 kPa (4 Bar) und eine maximale Dampftemperatur von 147 °C erzeugt. Die maximale Leistung beträgt 2300 Watt, die Saugleistung 1000 Watt und das Aufheizen des Wasserbehälters benötigt ca. vier Minuten. Des Weiteren verfügt der Dampfsauger über ein patentiertes Slalomsystem zur besseren Beweglichkeit des Gerätes und über ein Rain-Filterssystem. Letzteres filtert Mikropartikel durch einen Mikrozerstäuber aus der Luft, indem sog. Venturi-Düsen die eingesogene Luft mit Unterdruck durch das Leitungswasser im Wasserbehälter wirbeln. Insgesamt besitzt der Dampfsauger vier unterschiedliche Filter, die zur Reinigung beitragen. Neben dem bereits aufgeführten Rain-Filter, verfügt das Gerät noch über einen speziellen waschbaren Schwammfilter, einen Abluft- und Motorfilter. An dem Steuerhandgriff des Gerätes können verschiedene Optionen eingestellt werden. Hier kann die Dampffunktion und Saugfunktion ein- bzw. ausgeschaltet werden und zudem die Saugleistungsstärke über drei unterschiedliche Stufen reguliert werden. Die Dampfstärke kann über einen Drehknopf direkt am Gerät reguliert werden.

Zum Standardzubehör gehören zwei thermoisierte Rohre, eine Bodenbürste mit Gummilippe und Gleitschuh, eine Punktstrahldüse, ein schmaler Saugrüssel, eine Handbürste, eine kleine Rundbürste, ein Einfülltrichter, ein Doppelschlauch mit Steuerhandgriff und ein großer Fensterwischer. Das Sonderzubehör, welches optional erworben werden kann, umfasst eine Dreieckbürste, eine Rundbürste, einen Möbelpinsel, eine Dreistrahldüse, einen breiten Saugrüssel, einen kleinen Fensterwischer, eine Einfüllflasche, einen Blaseschlauch und einen Teppichschuh. Zum weiteren Zubehör zählen noch ein Sprudelbad, ein Profibügeleisen, ein Bügeltisch, ein Saugset, eine Turbobürste und ein Aromaverdampfer (Asum Favorit® GmbH, Neusäß, Deutschland).

## 1.2 Vorbereitungen vor Versuchsbeginn

Vor Versuchsbeginn wurde der Schmutzwasserbehälter und der Frischwassertank bis zur Markierung mit kaltem Leitungswasser befüllt. Im Anschluss wurde der Dampf-Saugschlauch und der Elektrosteckerschlauch an das Gerät angeschlossen. Das Aufleuchten einer grünen Diode zeigte den funktionsbereiten Zustand an. Im nächsten Schritt wurde der Hauptschalter Dampf-Saugfunktion betätigt, wodurch der Dampfgenerator mit dem Aufheizvorgang begann. Dies wurde durch das Blinken einer orangefarbenen Diode angezeigt. War der Aufheizvorgang beendet, leuchtete die Diode konstant orange und die Dampffunktion war einsatzbereit. Das Gerät wurde im Versuchsdurchlauf nur mit konstant orange leuchtender Diode und somit abgeschlossenen Aufheizvorgang eingesetzt. Sowohl die Dampf- als auch die Saugstärke wurden während der Experimente auf maximale Stufe eingestellt. Nachdem der gewünschte Aufsatz an den Saug-Dampfschlauch angesteckt war, konnte mit der Dampfreinigung begonnen werden. Vom Hersteller wird für die Reinigung von glatten Oberflächen, wie Fliesen, Linoleum- oder PVC-Böden, die Bodenbürste mit Gummilippe als optimaler Aufsatz empfohlen (Asum Favorit® GmbH, Neusäß, Deutschland).

In der Studie wurde aufgrund der einfacheren Handhabung und besseren Desinfizierbarkeit der kleine Fensterwischer (Sonderzubehör) als Aufsatz verwendet (Abb. 1).



**Abb. 1:** Kleiner Fensterwischeraufsatz (Firma Asum Favorit® GmbH)

Dieser besaß eine Länge von 13 cm und die Gummilippe war jeweils um 0,5 cm kürzer als die Gesamtlänge. Die Fensterwischeraufsätze wurden vor und nach

jedem einzelnen Saug-Bedampfungsvorgang in 80%igem Ethanol eingetaucht, um eine etwaige Kontamination auszuschließen. Anschließend wurden sie bei Raumtemperatur getrocknet und erst nach vollständiger Trocknung wieder eingesetzt. Bei den sporoziden Versuchen des Laborstudienteils wurden diese hingegen mit einem kommerziellem Desinfektionsmittel (Safe Sept Flächendesinfektion, Henry Schein®) eingesprüht. Zusätzlich wurden der Schmutzwasserbehälter und Frischwassertank am Ende jedes Versuchstages entleert und mit frischen Leitungswasser befüllt. Am Ende jeder Versuchswoche wurde der Schmutzwasserbehälter entnommen, mit 80%igem Ethanol eingesprüht und über Nacht vor Wiederbefüllung getrocknet.

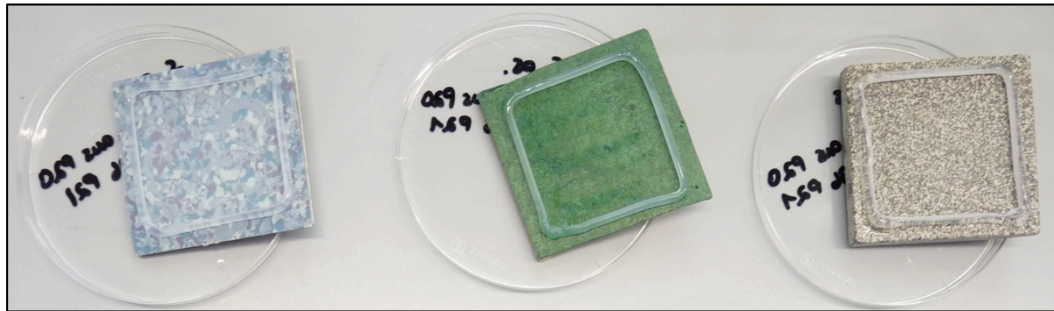
## **2. Keimträger**

### **2.1 Auswahl und Vorbereitung der Testflächen**

Es wurden drei unterschiedliche Oberflächenmaterialien als Testflächen für die Versuchsdurchführung im experimentellen Laborstudienteil ausgewählt, welche häufige Bodenbeläge in tierärztlichen Einrichtungen widerspiegeln. Diese waren Fliesen, Polyvinylchlorid (PVC) und Linoleum. Es wurde eine unglasierte Feinsteinzeugfliese aus der Linie Granitogres-Granito 1 der Firma Casalgrande Padana® mit einer Rutschfestigkeit von R9 verwendet. Der Polyvinylchlorid Belag (Zusammensetzung: thermoplastischer Kunststoff (PVC), Weichmacher, Füllstoffe, Stabilisatoren und Farbpigmente) war homogen, einschichtig und antistatisch elastisch aus Vinyl ohne Träger. Eingesetzt wurde hierfür Mipolam Cosmo (2606 Azur, nach EN 649) von der Firma Gerflor®. Die Linoleumkeimträger (Zusammensetzung: Naturharze, Leinöl, Kork, Holzmehl, Farbpigmente und Jute als Trägermaterial) waren aus der Linie Marmoleum Real der Firma forbo®.

Für die Versuchsdurchführung wurden pro Bodenbelag jeweils zehn Stück auf 6 x 6 cm zugeschnitten (Höhe Fliese: 0,8 cm; Höhe PVC/Linoleum: 0,2 cm). Zudem wurden die PVC- und Linoleumstücke auf 5 x 5 x 0,1 cm große Edelstahlplatten aufgeklebt, um Verwölbungen der Oberflächen zu verhindern. In den bakteriellen Versuchen mit über Nacht generiertem Biofilm wurden die Flächenstücke entlang des Randes mit Silikon abgefugt, um einen konstanten Flüssigkeitsspiegel innerhalb der Silikonabgrenzung erhalten zu können (Abb. 2). Zur Desinfektion wurden die Testflächen bei den Laborversuchen mit Bakterien

mit 80%igem Ethanol bzw. bei den sporoziden Experimenten mit Safe Sept Flächendesinfektion (Henry Schein®) eingesprüht und bei Raumtemperatur getrocknet. Die Aufbewahrung für den nächsten Versuchsdurchlauf erfolgte in sterilen Petrischalen.

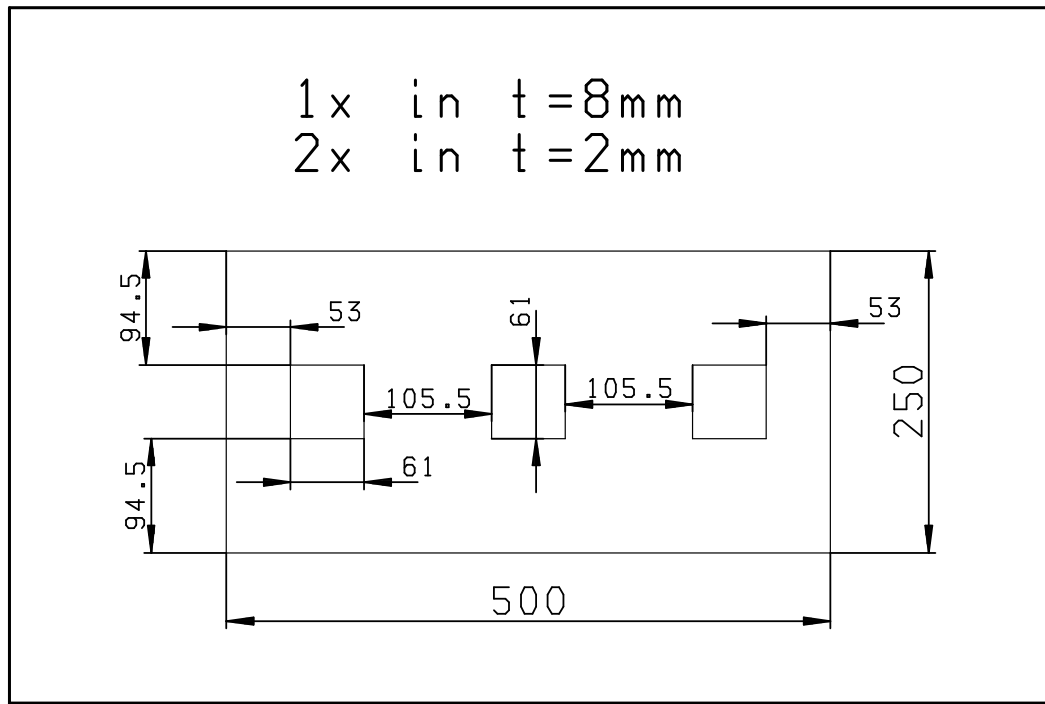


**Abb. 2:** Unterschiedliche Testflächen (von links nach rechts: PVC, Linoleum, Fliese) mit über Nacht getrockneter Silikonrandbegrenzung

## 2.2 Befestigungsvorrichtung

Zur Befestigung der Keimträger während des Saug-Bedampfungsvorganges wurden im Vorfeld passende Glasplatten angefertigt. Diese besaßen eine Größe von 500 x 250 mm und eine Höhe von 8 mm bzw. 2 mm, passend zur Höhe der drei Keimträger. In alle Glasplatten wurden zentral drei 61 x 61 mm große Ausschnittflächen zum Einsetzen der Oberflächen gefräst. Die Ausschnittflächen lagen jeweils 105,5 mm voneinander entfernt. Insgesamt wurden drei Glasplatten angefertigt (Abb. 3).

Vor und nach jedem Versuchsdurchlauf wurden die Glasplatten mit Safe Sept Flächendesinfektion (Henry Schein®) desinfiziert und bei Raumtemperatur getrocknet. Die Oberflächenstücke wurden anschließend mit Hilfe einer sterilen Pinzette eingesetzt und so waren pro Bodenbelag drei parallele Ansätze möglich. Da minimale Spaltbildungen zwischen Keimträger und Glasplatte nicht zu vermeiden waren, wurden diese mit steriler Applica-OP-Folie von Smith & Nephew® (Artikelnummer: 66001219) überbrückt, um eine bessere Verankerung der Oberflächenstücke in der Haltevorrichtung aus Glas zu erlangen und um mögliche Keimverwirbelungen während des Saug-Dampfvorganges an nicht behandelte Stellen der Testfläche zu verhindern (Abb. 4).



**Abb. 3:** Schema der angefertigten Glasplatten (angegebene Maße in mm)



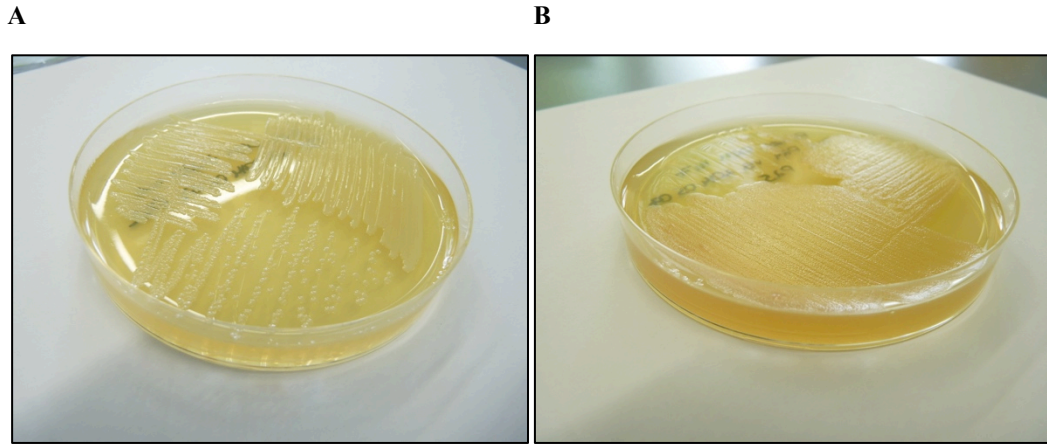
**Abb. 4:** Angefertigte Glasplatte mit eingesetzten Polyvinylchlorid-Testflächen

### 3. Testorganismen

#### 3.1 Bakteriellies Keimspektrum

In der Laborstudie wurden zwei unterschiedliche Bakterienspezies (grampositiv, gramnegativ) aus der Stammsammlung des „Institutes für Infektionsmedizin und Zoonosen“ der Tierärztlichen Fakultät an der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München verwendet. Diese stammten ursprünglich von der „Deutschen

Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH“ (DSMZ) in Braunschweig. Als Testorganismen wurde *Staphylococcus pseudintermedius* (*Sp*) DSM 21284 und *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) DSM 1117 eingesetzt (Abb. 5).



**Abb. 5:** *Staphylococcus pseudintermedius* (A) und *Pseudomonas aeruginosa* (B) auf Difco™ Columbia Blood Agar Base Platten ohne Blutzusatz (Becton, Dickinson and Company®)

### 3.2 Mykologisches Keimspektrum

Für die sporoziden laborexperimentellen Untersuchungen wurden Sporen eines Isolats von *Microsporium canis* (*Mc*) 397-2008 aus der Stammsammlung des „Institutes für Infektionsmedizin und Zoonosen“ der Tierärztlichen Fakultät der LMU München verwendet (Abb. 6). Das Feldisolat wurde von einer drei Monate alten Katze in der „Medizinischen Kleintierklinik“ im Zentrum für klinische Tiermedizin der LMU München gewonnen (Probeneingang 14.11.2008).



**Abb. 6:** *Microsporium canis* auf Sabouraud-2 % Glukose-Agarplatten (Merck Millipore®)



## 4. Studiendesign

### 4.1 Allgemeines

Das Studiendesign gliederte sich in zwei experimentelle Studienteile. Zunächst wurde eine laborexperimentelle Studie mit bakteriologischen und mykologischen Untersuchungen am „Institut für Infektionsmedizin und Zoonosen“ der Tierärztlichen Fakultät der LMU München durchgeführt. Im Anschluss daran fand eine Feldstudie unter realistischen Praxisbedingungen mittels Oberflächenabklatschproben an der „Medizinischen Kleintierklinik“ im Zentrum für klinische Tiermedizin der LMU München statt. Das Studiendesign der Laborstudie wurde soweit wie möglich an entsprechende Prüfrichtlinien der DVG für chemische Desinfektionsmittel im Keimträgertest und an DIN EN Normen (DIN EN 14349, DIN EN 16438) („Deutsches Institut für Normung e. V.“, Berlin, Deutschland) angelehnt (DVG, 2015f, 2015c). In der Feldstudie wurde DIN ISO 18593 und DIN EN ISO 4833 berücksichtigt („Deutsches Institut für Normung e. V.“, Berlin, Deutschland).

Im Versuchsaufbau der Laborstudie kamen drei ausgewählte Testorganismen (*Sp*, *Pa*, *Mc* Sporen), drei verschiedene Keimträger (Fliese, PVC, Linoleum), unterschiedliche bakterielle Konzentrationen (McFarland (McF) 1.0, McF 4.0, über Nacht generierter Biofilm) und verschiedene Bedampfungszeiten (1 s, 3 s) zum Einsatz. In der Feldstudie wurden verschiedene Lokalisationen (Fußboden, Behandlungstisch, Mikroskopiertisch) und eine Bedampfungszeit von 1 s als Prüfkriterien in die Versuchsdurchführung integriert.

### 4.2 Mikrobiologische Arbeitsmaterialien

#### *Allgemeine Labormaterialien*

In den Versuchsreihen wurden hohe Bechergläser (hohe Form, Borosilikatglas 3.3 mit Ausguss, 1000 ml; Katalognummer: 213-1176) und niedrige Bechergläser (niedrige Form, Borosilikatglas 3.3 mit Ausguss, 1000 ml; Katalognummer: 213-1128 bzw. 600 ml; Katalognummer: 213-1126) von VWR<sup>®</sup> verwendet. Diese wurden vor Versuchsbeginn mit Glasperlen 6 mm (Bestellnummer: 1040180500) von Merck Millipore<sup>®</sup> befüllt.

#### *Reagenz- und Zentrifugenröhren*

In der Laborstudie wurden zum Erstellen dekadischer Verdünnungsreihen und

bakterieller Testkeimsuspensionen hauseigene autoklavierbare 15,0 ml Glasröhren benutzt. Eppendorf Tubes<sup>®</sup> 5.0 ml (Katalognummer: 0030119401) wurden zur Aufbewahrung der hergestellten *Mc* Sporensuspensionen und zur anschließenden Zentrifugation verwendet. Die Stammlösung aus *Mc* Sporen wurde in eine sterile Röhre, 13 ml, 100 x 16 mm, PP (Bestellnummer: 62.515.028) von Sarstedt<sup>®</sup> überführt. Eppendorf Tubes<sup>®</sup> 3810X, 1.5 ml (Katalognummer: 0030125150) dienten zur Aufbewahrung der Aliquots der Sporenstammlösung. Zur Zentrifugation der Sporenschüttelflüssigkeiten wurden Röhren 15 ml, 120 x 17 mm, PP (Bestellnummer: 62.554.502) von Sarstedt<sup>®</sup> eingesetzt.

#### *Pipetten und -spitzen*

In der Laborstudie wurden serologische Pipetten 5 ml (Bestellnummer: 86.1253.001), 10 ml (Bestellnummer: 86.1254.001) und 25 ml (Bestellnummer: 86.1685.001) von Sarstedt<sup>®</sup> und Biosphere<sup>®</sup> Filter Tips 100 (Bestellnummer: 70.760.212), Biosphere<sup>®</sup> Filter Tips 200 (Bestellnummer: 70.760.211) und Biosphere<sup>®</sup> Filter Tips 1000 (Bestellnummer: 70.762.211) von Sarstedt<sup>®</sup> verwendet.

#### *Kultivierungsmedien*

Zur Testflächenaufbewahrung und als Kultivierungsmedium kamen Petrischalen 92 x 16 mm mit Nocken (Bestellnummer: 82.1473.001) von Sarstedt<sup>®</sup> zum Einsatz. Bei den mykologischen Untersuchungen fand die Sporenanzüchtung in TC-Flaschen T75, Standard (Bestellnummer: 83.3911) von Sarstedt<sup>®</sup> statt.

#### *Geräte*

Zur Konzentrationsbestimmung mittels McFarland (McF) Standard wurde ein Densimat (Idno010690, IIA 2553) von bioMérieux<sup>®</sup> verwendet. Der eingesetzte Laborschüttler KS 250 basic und der Vortex Genius 3 stammten von IKA<sup>®</sup> Labortechnik. Für die Inkubation wurden die Inkubatoren Heraeus B12 Function Line von Thermo scientific<sup>®</sup> und der Inkubator Galaxy 170 S von New Brunswick<sup>®</sup> an Eppendorf Company verwendet. Die Zentrifuge Centrifuge 5810 R von Eppendorf<sup>®</sup> mit dem Rotor A-4-62 (4 x 250 ml) diente bei den mykologischen Experimenten. Zur sterilen Vorbereitung von Flüssigkeiten und Feststoffen wurde von der Firma Systec<sup>®</sup> GmbH der horizontale Tischautoklav DX-65 benutzt. Zur Auswertung der Feldstudienergebnisse mittels MALDI-TOF

MS wurde das Gerät Microflex LT Bruker<sup>®</sup> SN254472.00040 (3.0.182.0) mit einem MSP 96 Ground Steel Target (Nummer 224989) von Bruker<sup>®</sup> verwendet.

### *Chemikalien*

Im täglichen Laborgebrauch wurde Fluka<sup>®</sup> Aq. dest. (Bestellnummer: 39253-1L-R) von Sigma-Aldrich<sup>®</sup> und Ethanol  $\geq 99,8\%$  p. a. (Bestellnummer: 9065.3) von Carl Roth<sup>®</sup> verwendet. Neben 80%igem Ethanol wurde zur Desinfektion im Laborstudienteil Safe Sept Flächendesinfektion (Artikelnummer: 900-3207) von Henry Schein<sup>®</sup> angewendet. Als Grundbelastung wurde für die Keimträgerversuche eine zweifach vorkonzentrierte Eiweißlösung aus bovinen Serumalbumin (BSA; Produktnummer: A9418-50G) von Sigma-Aldrich<sup>®</sup> in einer Endkonzentration von 3,0 g/l entsprechend den DVG-Richtlinien eingesetzt. In den Laborversuchen der Bakterizidie wurde ebenfalls DVG konform eine Trypton-NaCl-Lösung als Verdünnungsmittel mit pankreatisch verdauten Pepton aus Casein (Trypton; Bestellnummer: 107213) von Merck Millipore<sup>®</sup> hergestellt (DVG, 2013a, 2015f). Der Standard-I-Nährbouillon wurde bei den Biofilmexperimenten mit über Nacht generiertem Biofilm D(+)-Glukose Monohydrat (Katalognummer: 1.08342.9025) (Merck Millipore<sup>®</sup>, VWR<sup>®</sup>) zugesetzt, um eine 1%ige Nährbouillon zu erhalten. Bei den mykologischen Laborversuchen kam als Verdünnungsmittel sterile, hauseigene phosphatgepufferte Salzlösung (phosphate buffered saline, PBS) ohne  $Mg^{2+}$  und  $Ca^{2+}$  zum Einsatz. Zur Herstellung der Matrixlösung für die Auswertung mittels MALDI-TOF MS wurde Fluka<sup>®</sup> Acetonitril (Bestellnummer: 34967-250ml) von Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, Trifluoressigsäure (Bestellnummer: 108178) von Merck Millipore<sup>®</sup>, Fluka<sup>®</sup> Zimtsäure ( $\alpha$ -Cyano-4-hydroxycinnamic acid; Bestellnummer: 70990-1G-F) von Sigma-Aldrich<sup>®</sup> und Ameisensäure 98-100 % (Bestellnummer: 100264) von Merck Millipore<sup>®</sup> verwendet.

### *Nährmedien*

Zur Anzucht von *Sp* und *Pa* Kolonien wurde Difco<sup>™</sup> Columbia Blood Agar Base (Katalognummer: 279240) von Becton, Dickinson and Company<sup>®</sup> ohne Blutzusatz verwendet. Die Nährlösung für die bakteriologischen Untersuchungen mit über Nacht generiertem Biofilm wurde mit der Standard-I-Nährbouillon (Bestellnummer: 107882) von Merck Millipore<sup>®</sup> mit 1 % Glukose hergestellt. Als Kulturmedium zur Anzucht von *Mc* Sporen wurde Sabouraud-2 % Glukose-

Agar (Bestellnummer: 107315) von Merck Millipore® verwendet. Zur Kultivierung von Mikroorganismen wurde in der Feldstudie der Contact Slide 9 (PCA+TTC+Neutralizing x 2; Referenznummer: 525322) von Liofilchem® ausgewählt. Bezogen wurden die Contact Slides über die Vertriebsfirma bestbion<sup>dx</sup> GmbH®, Köln, Deutschland.

#### **4.3 Vorbereitungen vor Versuchsbeginn**

Zur Herstellung der Grundbelastung wurde für die Laborstudie eine zweifach vorkonzentrierte Eiweißlösung aus bovinen Serumalbumin (BSA) in einer Endkonzentration von 3,0 g/l hergestellt. Hierfür wurden 0,6 g BSA in 100 ml Aq. dest. gelöst und durch einen sterilen Membranfilter (Nalgene® bottle-top sterile filter units, Volumen 150 ml, Porengröße 0,2 µm (Produktnummer: Z370541-12EA) von Sigma-Aldrich®) steril filtriert. Die Belastungssubstanz konnte bis zu einem Monat im Kühlschrank bei 4 - 5 °C gelagert werden und wurde unter einer Sicherheitswerkbank aliquotiert. Die Trypton-NaCl-Lösung wurde mit 1,0 g pankreatisch verdauten Trypton aus Casein, 8,5 g NaCl und Aq. dest. ad 1000 ml hergestellt. Die Lösung wurde anschließend mit Hilfe von Natronlauge bzw. Essigsäure auf einen pH-Wert von  $7,0 \pm 0,2$  eingestellt und autoklaviert. Nach entsprechender Aliquotierung unter einer Sicherheitswerkbank konnte diese im Kühlschrank bei 4 - 5 °C gelagert werden. Die beiden Lösungen wurden nach entsprechenden DVG-Richtlinien hergestellt (DVG, 2013a).

Zur Herstellung des Difco<sup>TM</sup> Columbia Blood Agar Base wurden 44 g Nährsubstrat in 1 l Wasser gelöst und gründlich verrührt. Anschließend wurde die Lösung unter Rühren erhitzt und 1 min lang gekocht, um das Nährsubstrat vollständig aufzulösen. Daraufhin wurde die Agarlösung bei 121 °C 15 min autoklaviert und ohne Blutzusatz in sterile Petrischalen abgefüllt. Nach Abtrocknung des Kondensatwassers wurden sie anschließend verpackt und im Kühlschrank bei 4 - 5 °C gelagert. Die Standard-I-Nährbouillon wurde mit 25 g Nährsubstrat pro Liter Wasser hergestellt. Anschließend wurde sie bei 121 °C 15 min autoklaviert und zusätzlich 1 g D(+)-Glukose pro 100 ml zugesetzt, um eine 1%ige Nährbouillon zu erhalten. Diese wurde unter einer Sicherheitswerkbank aliquotiert und im Kühlschrank bei 4 - 5 °C aufbewahrt. Zur Sabouraud-2 % Glukose-Agar Herstellung wurden 47,0 g Nährsubstrat in 1 Liter demineralisierten Wasser gelöst und unter regelmäßigem Umschwenken gekocht bis der Nährboden sich vollständig gelöst hatte. Danach wurde die Nährlösung 15

min bei 121 °C autoklaviert und in sterile Petrischalen abgefüllt. Nach Abtrocknung des Kondensatwassers und Verpackung wurden die Agarplatten im Kühlschrank bei 4 - 5 °C gelagert.

Zur MALDI-TOF MS Analyse wurde eine Matrixlösung aus Organic Solvent (OS) Lösung und Zimtsäure ( $\alpha$ -Cyano-4-hydroxycinnamic acid) hergestellt. Für 1 ml OS-Lösung wurden 500  $\mu$ l Acetonitril, 475  $\mu$ l Aq. dest. und 25  $\mu$ l reine Trifluoressigsäure verwendet. Bei der Herstellung von 1 ml Matrix-Lösung wurden 14 mg Zimtsäure mit 1 ml OS Lösung in Verbindung gebracht. Die leicht übersättigte Lösung wurde zum Absetzen der entstandenen Kristalle einige Minuten bei Raumtemperatur stehen gelassen und anschließend in Gefäße mit wenig Totraum à 0,5 ml portioniert. Die Lagerung erfolgte im Dunklen, dicht verschlossen in Aludosen. Zudem wurden die Targets im Vorfeld gründlich unter heißem Wasser gereinigt und mit 70 %igem Ethanol desinfiziert.

Vor Beginn der Laborstudie wurden die mikrobiologischen Arbeitsmaterialien entsprechend vorbereitet. Für die Bakterizidieprüfungen wurden die Bechergläser autoklaviert und anschließend bodenbedeckt mit sterilen Glasperlen und einer entsprechenden Volumina an steriler NaCl befüllt. Bei Bechergläsern 1000 ml, hohe Form, und Bechergläsern 600 ml, niedrige Form, wurde für Fliesenstücke 40,0 ml bzw. für PVC- und Linoleumstücke 30,0 ml NaCl verwendet. Beim Einsatz der Bechergläser 1000 ml, niedrige Form, wurde mit einem Volumen von 40,0 ml NaCl für Fliese, PVC und Linoleum gearbeitet. Bei den mykologischen Experimenten wurde konstant mit 20 ml NaCl gearbeitet und die Bechergläser wurden im befüllten Zustand (mit Glasperlen und NaCl) autoklaviert, um eine höhere Desinfektionssicherheit zu erlangen. Die Becherglasöffnungen wurden während der Experimente mit Alufolie verschlossen. Die zum verbesserten Keimabrieb eingesetzten Glasperlen wurden nach jedem Versuchstag entweder mit 80%igem Ethanol (Bakterizidieprüfung) oder mit Safe Sept Flächendesinfektion (Henry Schein®; Sporozidieprüfung) desinfiziert, bei Raumtemperatur getrocknet und abgeschlossen aufbewahrt. Zusätzlich wurden sie am Ende jeder Versuchswoche autoklaviert.

## 5. Protokolle der Versuchsdurchführung

### 5.1 Vorversuche

Im Vorfeld wurden unterschiedliche Vorversuche zur Versuchsdurchführung und Reproduzierbarkeit gemacht. Der Versuchsaufbau entspricht, soweit nicht anders erwähnt, dem Protokoll des jeweiligen Hauptversuchs (Punkt III 5.2.1. bzw. 5.2.2.). Die verwendeten Inokula zur Kontamination der Keimträger wurden stets in der gewünschten Konzentration täglich neu hergestellt.

#### *McFarland-Experimente:*

In den Vorversuchen der McFarland (McF)-Experimente wurden an drei unterschiedlichen Tagen die Wiederholbarkeit von Keimrückgewinnungsraten von unbehandelten, kontaminierten Keimträgern überprüft. An jedem einzelnen Tag wurden drei Versuchsansätze mit drei identisch behandelten Fliesen-, PVC- und Linoleumstücken durchgeführt. Gearbeitet wurde sowohl bei *Sp* als auch bei *Pa* mit einem McF Standard von 4.0. Das Beimpfungsvolumen betrug 50 µl, bestehend aus 25 µl Testkeimsuspension und 25 µl bovinen Serumalbumin (BSA). In insgesamt acht Versuchen wurde ein Beimpfungsvolumen von 100 µl, bestehend aus 50 µl Testkeimsuspension und 50 µl BSA, eingesetzt. Die Keimträger wurden vor der Kontamination im Brutschrank bei 37 °C 15 min vorgewärmt. Am ersten Versuchstag wurden alle Fliesenstücke nach Kontamination mit *Sp* bzw. *Pa* im Brutschrank bei 37 °C getrocknet. Für das Keimrückgewinnungsverfahren wurde ein NaCl Volumen von 40,0 ml verwendet.

In einem weiteren Vorversuchsansatz wurde an drei unterschiedlichen Tagen mit jeweils drei Versuchsansätzen mit drei identisch behandelten Fliesen-, PVC- und Linoleumstücken die Wiederholbarkeit der Keimrückgewinnungsraten von bedampften Keimträgern untersucht. In jedem Versuchsansatz wurde ein nicht bedampfter Kontrollkeimträger als Negativkontrolle mitgeführt. Gearbeitet wurde mit *Sp* in einer Konzentration von McF 4.0 und einer Bedampfungszeit von 1 s. Die Keimträger wurden vor der Kontamination einheitlich 30 min im Brutschrank bei 37 °C vorgewärmt und anschließend mit 50 µl, bestehend aus 25 µl BSA und 25 µl Testkeimsuspension, beimpft. Die Keimrückgewinnung in Bechergläsern fand entsprechend der bereits genannten Volumina (Punkt III 4.3.) statt.

*Biofilm-Experimente:*

Im Bereich Biofilm-Experimente wurde in einer Vorversuchsreihe die Reproduzierbarkeit der Keimrückgewinnungsraten ohne Bedampfungsvorgang untersucht. Diese wurde in zwei Ansätzen mit je drei identisch behandelten Fliesen-, PVC- und Linoleumstücken überprüft. Verwendet wurde als Testkeim *Sp* in einer Ausgangskonzentration von McF 4.0 und ein Beimpfungsvolumen von 1 ml. Die Inkubationszeit im Brutschrank bei 37 °C betrug im ersten Ansatz 18 h und im zweiten Ansatz 24 h. Das Volumen an Schüttelflüssigkeit im Becherglas entsprach dem in den Vorbereitungen vor Versuchsbeginn (Punkt III 4.3.) aufgeführten Volumen.

*Mykologische Experimente:*

Bei den mykologischen Experimenten mit *Mc* Sporen wurden im Vorversuch die Keimrückgewinnungsraten zunächst ohne Bedampfungsvorgang untersucht. Dies erfolgte zum einen ohne Zentrifugation und zum anderen mit Zentrifugation der Schüttelflüssigkeiten (Punkt III 5.2.2.) jeweils im Dreifachansatz an drei verschiedenen Tagen. Das Beimpfungsvolumen der Keimträger betrug 100 µl Sporensuspension beim Ansatz ohne Zentrifugation bzw. 200 µl, bestehend aus 100 µl Sporensuspension und 100 µl BSA, beim Ansatz mit Zentrifugation der Schüttelflüssigkeiten. Das Volumen an Schüttelflüssigkeit betrug konstant 20,0 ml NaCl.

Zudem wurde die Wiederholbarkeit der Keimrückgewinnungsraten von bedampften Keimträgern überprüft. Hierfür wurden drei identisch bedampfte Fliesen-, PVC- und Linoleumstücken an einem Tag in drei Ansätzen, einschließlich Negativkontrollen getestet. Alle Keimträger wurden mit 100 µl einer Sporensuspension beimpft. Die Sporensuspension wurde mit jeweils 100 µl BSA aufgetragen. Das Volumen an NaCl war konstant 20,0 ml und die Zentrifugation der Schüttelflüssigkeiten wurde entsprechend dem Hauptversuch (Punkt III 5.2.2.) durchgeführt.

## 5.2 Laborstudie

### 5.2.1 Bakteriologische Untersuchungen

#### 5.2.1.1 McFarland-Experimente

Die Hauptversuche der bakteriologischen Untersuchungen mit unterschiedlichen McFarland (McF) Standards wurden mit den Bakterien *Staphylococcus pseudintermedius* (*Sp*) und *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) durchgeführt. Gearbeitet wurde mit unterschiedlichen Bedampfungszeiten (1 s, 3 s), McF Standards (1.0, 4.0) und mit drei unterschiedlichen Keimträgern (Fliese, PVC, Linoleum). Die Experimente fanden in folgenden fünf Konstellationen statt:

1. *Sp*, McF 1.0, 1 s – Fliese, PCV, Linoleum
2. *Sp*, McF 1.0, 3 s – Fliese, PCV, Linoleum
3. *Sp*, McF 4.0, 1 s – Fliese, PCV, Linoleum
4. *Sp*, McF 4.0, 3 s – Fliese, PCV, Linoleum
5. *Pa*, McF 4.0, 1 s – Fliese, PCV, Linoleum

Bei *Pa* waren die Ergebnisse aufgrund der niedrigen Keimrückgewinnungsrate nur bei McF 4.0 und 1 s Bedampfungszeit signifikant. Jede der aufgeführten Konstellationen wurde an drei unterschiedlichen Tagen mit je drei identisch bedampften Fliesen-, PVC- und Linoleumstücken durchgeführt. In jedem Versuchsansatz wurde eine nicht bedampfte Negativkontrolle als Bezugswert für Reduktionsraten mitgeführt. Die Nachweisgrenze lag im verwendeten Verfahren bei 200 Colony Forming Units (CFU)/Keimträger (40 ml Schüttelflüssigkeit) bzw. bei 150 CFU/Keimträger (30 ml Schüttelflüssigkeit). In die Keimzahlbestimmung (CFU/Keimträger) wurden nur Kolonienzahlen zwischen 0 und 300 pro auswertbarer Platte miteinbezogen. Im Folgenden ist das genaue Versuchsprotokoll aufgeführt.

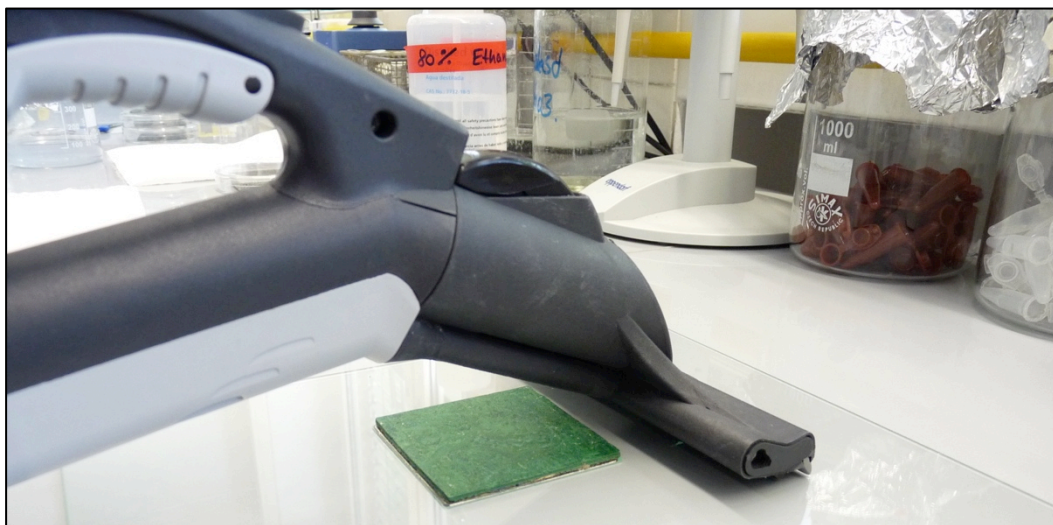
Im ersten Schritt wurde eine Testkeimsuspension hergestellt. Diese wurde während der Versuchsdurchführung im Kühlschrank bei 4 - 5 °C gelagert. Hierfür wurden in 10,0 ml Trypton-NaCl-Lösung Kolonien von Übernachtskulturen von *Sp* oder *Pa* mit Hilfe einer sterilen Impföse verbracht und durch Auf- und Abpipettieren gleichmäßig darin verteilt. Die gewünschte Konzentration wurde photometrisch mit Hilfe eines Densimaten überprüft und auf einen McF Standard



von 1.0 bzw. 4.0 eingestellt.

Im nächsten Schritt erfolgte die Kontamination der Keimträger Fliese, PVC oder Linoleum. Alle Testflächen wurden im Vorfeld 15 min im Brutschrank in sterilen Petrischalen bei 37 °C vorgewärmt. Die Beimpungsflüssigkeit wurde aus 125 µl Testkeimsuspension und 125 µl BSA hergestellt und innerhalb von 2 min verwendet. Daraus wurden jeweils 50 µl auf den Keimträger aufgebracht und unter Aussparung eines ca. 1 cm großen Randes mit Hilfe eines abgeflammt Glasspatels gleichmäßig verteilt. Nach sichtbarer Trocknung bei Raumtemperatur wurden je drei Keimträger eines Bodenbelages (Fliese, PVC oder Linoleum) in die Aussparungen der entsprechenden Glasplatte eingesetzt und an den Rändern (ca. 0,5 cm) mit Applica-OP-Folie abgeklebt.

Im nächsten Schritt erfolgte der Bedampfungsvorgang für 1 s oder 3 s. Dieser fand durch einmaliges Ziehen mit einem sterilen kleinen Fensterwischeraufsatz von oben nach unten über die zu bedampfende Testfläche statt (Abb. 7).



**Abb. 7:** Demonstration eines Bedampfungsvorganges

Im Anschluss an jeden einzelnen Bedampfungsvorgang wurde der Fensterwischeraufsatz gewechselt und somit immer ein steriler Aufsatz verwendet. Vor dem Keimrückgewinnungsverfahren wurden die Keimträger zur Wärmeeinwirkung 10 min bei Raumtemperatur stehen gelassen. Alle bedampften Keimträger und die Negativkontrolle wurden nun mit der kontaminierten Oberfläche nach unten in vorbereitete Bechergläser (Punkt III 4.3.) verbracht. Auf

dem Laborschüttler wurden die Bechergläser bei 100 - 120 U/min 15 min geschüttelt. Aus den Schüttelflüssigkeiten und der Testkeimsuspension wurden dekadische Verdünnungsreihen in 1:10er Schritten in jeweils 4,5 ml NaCl angelegt. Diese wurden auf Difco<sup>TM</sup> Columbia Blood Agarplatten ohne Blutzusatz ausplattiert (Doppelansatz jeweils 100 µl) und bei 37 °C 18 - 24 h aerob inkubiert. Die Keimzahlbestimmung erfolgte mittels Auszählung der CFU (CFU/Keimträger bzw. CFU/ml).

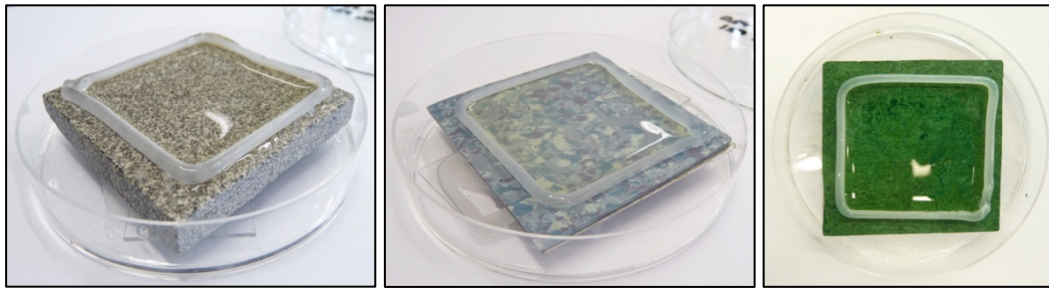
#### 5.2.1.2 Biofilm-Experimente

Als höchste Konzentrationsstufe wurde in den bakteriellen Untersuchungen die Keimreduktion auf Keimträgern mit über Nacht generiertem Biofilm untersucht. Die Biofilmexperimente wurden mit den Keimen *Sp* und *Pa*, Bedampfungszeiten von 1 s und 3 s und auf den drei unterschiedlichen Keimträgern durchgeführt. Die Hauptversuche in diesem Bereich umfassten folgende vier Konstellationen:

1. *Sp*, 1 s – Fliese, PCV, Linoleum
2. *Sp*, 3 s – Fliese, PCV, Linoleum
3. *Pa*, 1 s – Fliese, PCV, Linoleum
4. *Pa*, 3 s – Fliese, PCV, Linoleum

Jeder Versuchstag umfasste die Untersuchung dreier identisch bedampfter Fliesen-, PVC- und Linoleumstücke (einschließlich Negativkontrollen) im Dreifachansatz an drei unterschiedlichen Tagen. Die Kontaminationsflüssigkeiten wurden aus Standard-I-Nährbouillons mit 1%iger Glukose und einem McF Standard von 1.0 hergestellt. Die Nachweisgrenzen und Keimzahlbestimmungsgrenzen entsprechen den McF-Experimenten (Punkt III 5.2.1.1). Die Versuchsdurchführung ist im Folgenden protokolliert.

Zur Biofilmanzüchtung wurden Kolonien von Übernachtskulturen von *Sp* oder *Pa* in 10,0 ml Standard-I-Nährbouillon mit 1%iger Glukose gelöst und photometrisch mithilfe eines Densimaten auf einen McF Standard von 1.0 eingestellt. Die Keimträgerränder wurden tags zuvor mit Silikon abgefugt, um einen konstanten Flüssigkeitsspiegel auf solchen erhalten zu können. Die Keimträger wurden mit 800 µl der Nährbouillon beimpft und 24 h bei 37 °C im feuchten Brutschrank in feuchten Petrischalenkammer (Ø 14,5 cm) aerob inkubiert (Abb. 8).



**Abb. 8:** Unterschiedliche mit *Sp* kontaminierte Keimträger mit Silikonbegrenzung (von links nach rechts: Fliese, PVC, Linoleum)

Nach 24 h wurde der Flüssigkeitsspiegel auf den Keimträgeroberflächen verworfen und diese dreimal mit jeweils 1 ml phosphatgepufferter Salzlösung (phosphate buffered saline, PBS) gewaschen, um verbleibende planktonische Bakterien abzuschwemmen. Die Testflächen wurden nach Entfernung der Silikonbegrenzung bei Raumtemperatur getrocknet. Nach sichtbarer Trocknung wurden je drei Keimträger einer Oberflächenart (Fliese, PVC oder Linoleum) in die Aussparungen der jeweils angefertigten Glasplatte eingesetzt und die Versuche analog zu den McFarland-Experimenten (Punkt III 5.2.1.1.) durchgeführt.

### 5.2.2 Mykologische Untersuchungen

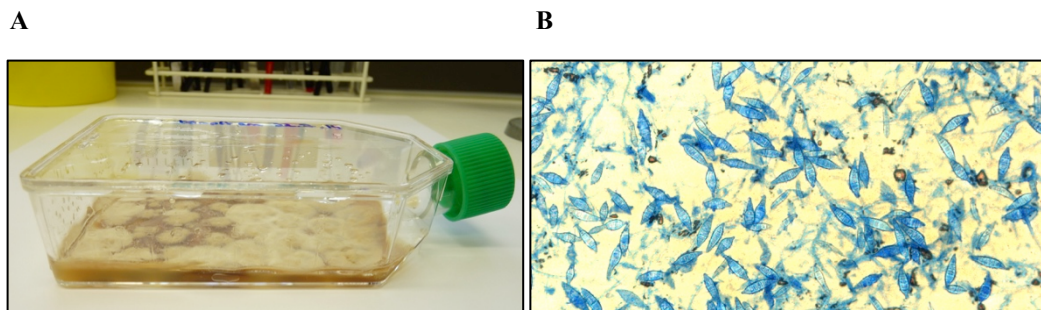
Die Hauptversuche im Bereich mykologischer Untersuchungen mit *Mc* Sporen fanden in folgenden Versuchskonstellationen statt:

1. *Mc* Sporen, 1 s – Fliese, PCV, Linoleum
2. *Mc* Sporen, 3 s – Fliese, PCV, Linoleum

Beide Konstellationen wurden in drei zeitlich voneinander getrennten Ansätzen mit jeweils drei identisch bedampften Fliesen-, PCV- und Linoleumstücken (inklusive Negativkontrollen) durchgeführt. Die Nachweisgrenze mit 2 CFU/Keimträgern war aufgrund der Zentrifugation der Schüttelflüssigkeiten relativ gering. Es wurden Kolonienzahlen zwischen 0 und 300 pro auswertbarer Platte in die Konzentrationsbestimmung miteinbezogen. Im Folgenden ist das genaue Versuchsprotokoll aufgelistet.

Im ersten Schritt wurde eine Sporenstammkultur (12,0 ml) für alle durchzuführenden Versuche hergestellt. Hierzu wurden im Vorfeld *Mc*

Subkulturen auf Sabouraud–2 % Glukose-Agarplatten angelegt und Kolonien dieser zur Sporenanzucht in sterile Zellkulturflaschen überimpft. Hierzu wurden die Zellkulturflaschen mit 50 ml Sabouraud–2 % Glukose-Agar befüllt und nach Agaraushärtung mit einer sterilen Impföse an 5 - 10 Stellen mit *Mc* Subkulturen kontaminiert. Die beimpften Zellkulturflaschen wurden im Anschluss bei 32 °C 2 - 4 Wochen aerob bebrütet bis ein gutes Keimwachstum erkennbar war. Reife *Mc* Kolonien zeichneten sich durch flache, wattige und weiß ausstrahlenden Kolonien mit gelber bis brauner Unterseite aus (Abb. 9). Zellkulturflaschen mit visuell beurteilbarer Kontamination wurden verworfen.



**Abb. 9:** A: Zellkulturflasche mit reifen *Microsporium canis* (*Mc*) Kolonien auf Sabouraud–2 % Glukose-Agar; B: Mikroskopische Darstellung von *Mc* Sporen angefärbt mit Methylenblau

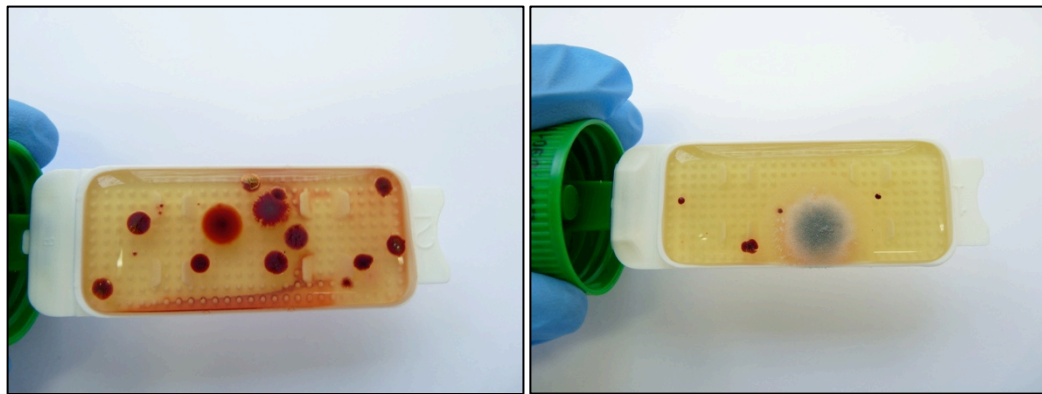
Sobald sich großflächig gut entwickelte Kolonien zeigten, fand die Sporenernte statt. Hierfür wurden die Zellkulturflaschen dreimalig mit jeweils 5 ml PBS und sterilen Glasperlen befüllt und horizontal geschüttelt. Daraufhin wurden die Sporensuspensionen unter mehrmaligen Auf- und Abpipettieren unter guter Durchmischung abgezogen und in drei Eppendorf Tubes® 5.0 ml überführt. So wurde mit allen angesetzten Zellkulturflaschen verfahren. Nun wurden die Sporensuspensionen 5 min bei einer Zentrifugalktemperatur von 20 °C und einer relativen Zentrifugalbeschleunigung von 3220 rcf = g zentrifugiert. Die nach der Zentrifugation entstandenen Pellets wurden anschließend wieder in 2 ml PBS gelöst. Sollte sich bei entnommenen Aliquots nach dreitägiger Bebrütung bei 32 °C eine Kontamination zeigen, wurde die jeweilige Ursprungslösung verworfen. Andernfalls wurden die verschiedenen Sporensuspensionen in einer sterilen Röhre zusammengeführt. Aus der so hergestellten Stammkultur wurden im Anschluss acht Aliquots à 1,8 ml in Eppendorf Tubes® 1.5 ml gebildet und im Kühlschrank bei 4 - 5 °C gelagert.

Nach Herstellung der Stammkultur erfolgte im nächsten Schritt die Kontamination der Keimträger Fliese, PVC und Linoleum. Hierfür wurden maximal 2 min vor Kontamination 1,5 ml Sporensuspension und 1,5 ml BSA vermischt. Hiervon wurden jeweils 200 µl auf die jeweilige Testfläche aufgetragen und mit einem Glasspatel unter Aussparung der Ränder (ca. 1 cm) gleichmäßig verteilt. Der Bedampfungsvorgang nach Antrocknung, die zehnminütige Wärmeinwirkungsphase und der Schüttelvorgang auf dem Laborschüttler (Schüttelflüssigkeit: 20,0 ml NaCl) fand analog zu den McF-Experimenten (Punkt III 5.2.1.1.) statt. Nach Entnahme von jeweils 15,0 ml kontaminierter Schüttelflüssigkeit (NaCl) aus den Bechergläsern wurde diese 5 min bei einer Zentrifugaltemperatur von 20 °C und einer relativen Zentrifugalbeschleunigung von 3220 g zentrifugiert. Das verbleibende Pellet wurde in 300 µl NaCl gelöst. Anschließend wurden Sabouraud-2 % Glukose Agarplatten mit der zentrifugierten Lösung (Doppelansatz, je 100 µl) beimpft und dekadische Verdünnungsreihen in 0,9 ml NaCl angelegt. Zudem wurde eine Konzentrationsbestimmung der jeweiligen Stammkultur durchgeführt. Die Agarplatten wurden bei 32 °C vier Tage aerob bebrütet und mittels CFU-Bestimmung ausgewertet (CFU/Keimträger bzw. CFU/ml).

### 5.3 Feldstudie

Im Rahmen der Feldstudie wurde die Wirksamkeit des Dampfreinigungsgerätes unter praxisnahen Bedingungen mittels Abklatschproben im dermatologischen Untersuchungsraum der Medizinischen Kleintierklinik an der LMU München getestet. Es wurden im Vorfeld drei horizontale „high touch“ Oberflächen mit hohem Kontaminationsrisiko festgelegt. Diese waren der mit Polyvinylchlorid (PVC) beschichtete Fußboden direkt im Eingangsbereich des dermatologischen Untersuchungsraumes, die Gummimatte auf dem Behandlungstisch und die Arbeitsplatte des Mikroskopiertisches. Der im Untersuchungsraum verlegte PVC-Fußboden war ein homogener, einschichtiger und antistatischer elastischer Bodenbelag aus Vinyl ohne Träger nach EN 649 (Mipolam Troplan, 1036 Medium Blue, Firma Gerflor®). Die Arbeitsplatte des Mikroskopiertisches war eine Kaindl Arbeitsplatte Granito hell 4287 PE (Artikelnummer: 50234/4287) mit hochabriebfestem Laminat verleimt auf einer Spannplatte (Vertrieb: ImHolz®). Auf dem Behandlungstisch wurde eine handelsübliche rutschfeste Gummimatte beprobt. Der PVC-Fußboden wurde jeden Morgen (Montag bis Freitag) von den

Reinigungskräften mit dem Alkoholreiniger ALKO-SUPER (Artikelnummer: 2546) von HWR Chemie<sup>®</sup> gewischt. Die Gummimatte des Behandlungstisches wurde nach jeder Patientenuntersuchung mittels Sprühdesinfektion unter Verwendung eines alkoholischen Schnelldesinfektionsmittels (DESCOSEPT AF (Artikelnummer: 00-311-050) von Dr. Schumacher GmbH<sup>®</sup>) desinfiziert. Die drei ausgewählten Lokalisationen wurden mit Hilfe von Contact Slide 9 (Liofilchem<sup>®</sup>) beprobt, welcher beidseits mit Plate-Count-Agar beschichtet war. Die Kontaktfläche des Objektträgers betrug hierbei 6 x 2 cm (12 cm<sup>2</sup>) und war zur Identifikation von Bakterien, Hefen und Schimmelpilzen geeignet (Abb. 10).



**Abb. 10:** Beispiele für kontaminierte Contact Slides (Contact Slide 9, Liofilchem<sup>®</sup>) nach 48 h Bebrütung

Die Abklatschproben wurden Montag bis Freitag am Ende des Kliniktages (18:00 – 20:00 Uhr) über 2 Wochen hinweg gesammelt. An jedem Untersuchungstag wurden an den drei Lokalisationen jeweils zwei Abklatschproben von nicht bedampften Flächen (Negativkontrollen) und zwei Abklatschproben von bedampften Flächen (1 s Bedampfungszeit) genommen. Hierfür wurden jeweils verschiedene, aber benachbarte Stellen an den drei Lokalisationen ausgewählt. Im verwendeten Verfahren gab es aufgrund fehlender Verdünnungsschritte keine Nachweisgrenze. Die Versuchsdurchführung und Ergebnisauswertung fand entsprechend dem Technical Sheet für Contact Slide 9 (Liofilchem<sup>®</sup>) statt (DVG, 2013a). In die Keimzahlbestimmung der Objektträger wurden Kolonienzahlen zwischen 0 und 300 pro auswertbarer Abklatschplatte miteinbezogen (CFU/side) und anschließend für die Ergebnisauswertung in die Einheit CFU/m<sup>2</sup> umgerechnet. Die Feldstudie wurde wie folgt durchgeführt.

Die zu beprobenden Stellen wurden vor Versuchsbeginn jeweils seitlich mit einem Stift markiert. Zunächst wurden an jeder Lokalisation die beiden nicht bedampften Negativkontrollen als Bezugswerte für Reduktionseffekte gesammelt. Hierfür wurden die Objektträger ohne Berührung der Kontaktfläche möglichst steril aus ihrer Verpackung entnommen und in einem 90° Winkel 10 s lang mit mäßigem Druck auf die jeweilige Oberfläche gedrückt. Danach wurden die Contact Slides wieder möglichst steril in ihre Behältnisse verbracht.

Im Anschluss folgte der Bedampfungsvorgang an je zwei benachbarten Stellen pro Lokalisation für 1 s. Das Dampfreinigungsgerät wurde hierfür analog zu den Laborversuchen ausgestattet und verwendet. Die Probenentnahme erfolgte nach einer zehnminütigen Wärmeeinwirkungsphase entsprechend den Abklatschproben von nicht bedampften Flächen. Nun wurden alle Objektträger bei 37 °C für 24 - 48 h aerob bebrütet. Für die Detektion von Hefen wurde die Inkubationszeit auf weitere 24 - 48 h bei 32 °C ausgedehnt. Für die Ergebnisauswertung war die Keimzahl (CFU) nach dem zweiten Inkubationszyklus ausschlaggebend (angegeben in CFU/m<sup>2</sup>).

Zudem wurde eine Spezifizierung der Bakterien- und Pilzisolates mittels MALDI-TOF MS durchgeführt. Hierfür wurden nach dem ersten bzw. bei Veränderungen auch nach dem zweiten Inkubationszyklus aussagekräftige Einzelkolonien auf den Objektträgern ausgewählt. Mit Hilfe eines Holzzahnstochers wurde das Material auf ein Target übertragen und mit 1 - 2 µl 70%iger Ameisensäure überschichtet. Nach sichtbarer Trocknung im Brutschrank bei 37 °C wurde auf jede besetzte Targetposition 1 - 2 µl Matrixlösung aufgetragen. Die anschließende Trocknung erfolgte bei Raumtemperatur. Die Steuerung des Microflex erfolgte mittels MALDI Biotyper Automation Control und dem Messprogramm flexControl 3.0. Hierbei wurden die Proteomprofile der Isolate mit im Gerät hinterlegten Profilen verglichen und mit einem bestimmten score value, abhängig vom jeweiligen Grad der Kongruenz, versehen. Geprüft wurde die Plausibilität der Speziesangaben anhand von Wachstumseigenschaften, score value Höhen und Differenzen zum nächstniederen Taxon.

Die Ergebnisauswertung wurde gemäß entsprechender Vorgaben der Software Biotyper 2.0 SR1 interpretiert. Score values von 2,300 - 3,000 zeigten eine hoch wahrscheinliche Speziesidentifikation, score values von 2,000 – 2,299 eine wahrscheinliche Spezies- und hoch wahrscheinliche Genusidentifikation, score



values von 1,700 - 1,999 eine unsichere Spezies- und wahrscheinliche Genusidentifikation und score values von 0,000 – 1,699 eine nicht zuverlässige Identifikation an. In der Ergebnisauswertung wurden Keimspeziesangaben bei score value Werten von 2,000 - 3,000 und Genusidentifikationen bei Score value Werten von 1,700 - 1,999 gemacht.

#### **5.4 Scoring-System**

In der Labor- und Feldstudie wurde zur besseren Veranschaulichung der Ergebnisse ein Scoring-System angewandt. Die vier unterschiedliche Kategorien (Scores) sind im Folgenden erklärt:

Score 1: Reduktion  $\geq 99,9\%$  ( $\geq 3$  log Stufen)

Score 2:  $99,9\% > \text{Reduktion} \geq 99,0\%$  ( $3 \text{ log Stufen} > \text{Reduktion} \geq 2 \text{ log Stufen}$ )

Score 3:  $99,0\% > \text{Reduktion} \geq 90,0\%$  ( $2 \text{ log Stufen} > \text{Reduktion} \geq 1 \text{ log Stufe}$ )

Score 4: Reduktion  $< 90,0\%$  ( $< 1 \text{ log Stufe}$ )



## IV. ERGEBNISSE

### 1. Allgemeine Hinweise

Die im Folgenden aufgeführten Zahlenwerte stellen Mediane mit in Klammern angegebenem 25%igen und 75%igen Perzentilen dar. Das Signifikanzniveau wurde in die drei Kategorien signifikant ( $p < 0,05$ ), sehr signifikant ( $p < 0,01$ ) und hoch signifikant ( $p < 0,001$ ) eingeteilt. Die statistische Auswertung und Berechnungen wurden mit dem Programm „IBM SPSS Statistics“ durchgeführt.

### 2. Ergebnisse der Vorversuchsreihe

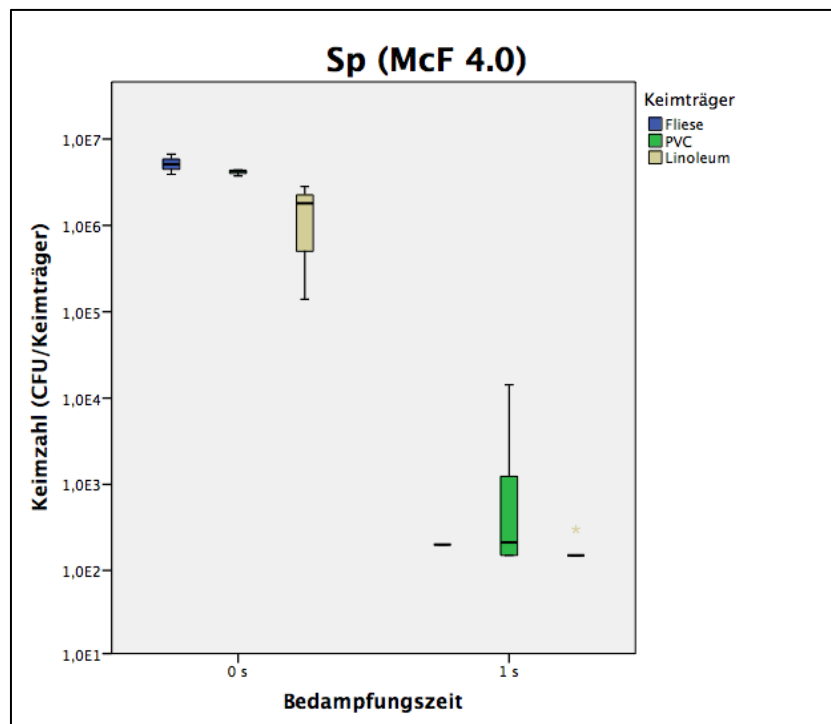
#### *McFarland-Experimente*

Im ersten Vorversuchsansatz wurde mit *Sp* ohne Bedampfung gearbeitet. Die auf McFarland (McF) 4.0 eingestellte Testkeimsuspension besaß bei *Sp* eine Konzentration von  $3,2 \times 10^8$  CFU/ml ( $2,3 \times 10^8$  CFU/ml;  $3,5 \times 10^8$  CFU/ml) und die unterschiedlichen Keimträger wurden im Anschluss mit  $7,9 \times 10^6$  CFU/Inokulum ( $5,8 \times 10^6$  CFU/Inokulum;  $9,1 \times 10^6$  CFU/Inokulum) beschickt. Die kontaminierten Fliesen benötigten 12,5 min, PVC- 17,0 min und Linoleum-Stücke 10,0 min bis zu einer sichtbaren Trocknung. Beim Keimträger Fliese war die Rückgewinnungsrate am höchsten mit  $8,9 \times 10^6$  CFU/Keimträger ( $3,7 \times 10^6$  CFU/Keimträger;  $3,2 \times 10^7$  CFU/Keimträger), gefolgt von PVC mit  $7,0 \times 10^6$  CFU/Keimträger ( $4,0 \times 10^6$  CFU/Keimträger;  $1,7 \times 10^7$  CFU/Keimträger) und Linoleum mit  $4,5 \times 10^6$  CFU/Keimträger ( $3,8 \times 10^6$  CFU/Keimträger;  $5,0 \times 10^6$  CFU/Keimträger). Die Konzentrationen nicht bedampfter Keimträger lagen somit bei 112,4 % (Fliese), 88,6 % (PVC) und 57,4 % (Linoleum) des ursprünglich aufgetragenen Keimvolumens (Inokulum).

Im zweiten Vorversuchsansatz wurde identisch für die Keimspezies *Pa* verfahren. Die Testkeimsuspension, eingestellt auf McF 4.0, besaß eine Konzentration von  $3,8 \times 10^8$  CFU/ml ( $3,8 \times 10^8$  CFU/ml;  $3,8 \times 10^8$  CFU/ml) und die Keimträger wurden insgesamt mit einer ähnlichen Keimzahl wie bei *Sp* mit  $9,5 \times 10^6$  CFU/Inokulum ( $9,4 \times 10^6$  CFU/Inokulum;  $9,5 \times 10^6$  CFU/Inokulum) kontaminiert. Die Trocknungsdauer lag bei Fliesen bei 10,5 min, bei PVC bei 20,0 min und bei Linoleum bei 11,0 min. Jedoch lagen die Keimrückgewinnungsraten der nicht bedampften Oberflächen im Vergleich zu *Sp* deutlich niedriger. So konnte beim

Keimträger Fliese noch 0,3 %, bei PVC 1,8 % und bei Linoleum 7,6 % der ursprünglich inokulierten Keimmenge nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu *Sp* lieferte in diesem Versuchsansatz somit Linoleum mit  $7,1 \times 10^5$  CFU/Keimträger ( $3,5 \times 10^5$  CFU/Keimträger;  $1,2 \times 10^6$  CFU/Keimträger) die höchste Keimrückgewinnungsrate, gefolgt von PVC mit  $1,7 \times 10^5$  CFU/Keimträger ( $1,1 \times 10^5$  CFU/Keimträger;  $4,2 \times 10^5$  CFU/Keimträger) und Fliese mit  $2,6 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $1,3 \times 10^4$  CFU/Keimträger;  $5,6 \times 10^4$  CFU/Keimträger).

In einem dritten Versuchsansatz wurde bei *Sp* (McF 4.0) mit einer Bedampfungszeit von 1 s gearbeitet (Abb. 11).



**Abb. 11:** Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s) Oberflächen beimpft mit *Sp* (McF 4.0) aufgeteilt nach Keimträgern

Die Ausgangslösung besaß eine Konzentration von  $4,8 \times 10^8$  CFU/ml ( $3,7 \times 10^8$  CFU/ml;  $5,2 \times 10^8$  CFU/ml) und die Kontamination der Keimträger erfolgte hier mit  $1,2 \times 10^7$  CFU/Inokulum ( $9,3 \times 10^6$  CFU/Inokulum;  $1,3 \times 10^7$  CFU/Inokulum). Die Trocknung dauerte bei Fliesen 11,0 min, bei PVC 23,0 min und bei Linoleum 12,0 min. Die auf den Negativkontrollen rückgewonnene Keimzahl lag insgesamt bei  $3,9 \times 10^6$  CFU/Keimträger ( $2,3 \times 10^6$  CFU/Keimträger;  $4,7 \times 10^6$  CFU/Keimträger) und betrug somit noch 32,8 % der

ursprünglich aufgetragenen Keimmenge. Hierbei wiesen alle unterschiedlichen nicht bedampften Keimträger ähnliche Keimzahlen von  $5,1 \times 10^6$  CFU/Fliese,  $4,3 \times 10^6$  CFU/PVC und  $1,8 \times 10^6$  CFU/Linoleum auf. Bei den bedampften Oberflächen war bei Linoleum mit stets  $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger die Keimzahl am niedrigsten, bei PVC hingegen mit  $2,2 \times 10^2$  CFU/Keimträger ( $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $3,9 \times 10^3$  CFU/Keimträger) am höchsten. Bei allen bedampften Fliesen waren die Ergebnisse kleiner gleich der Nachweisgrenze. Bei der Oberfläche Linoleum geschah dies am zweithäufigsten in sieben von acht und bei PVC in vier von acht Fällen. Die höchste Reduktion wurde auf dem Keimträger Fliese um 4,4 log-Stufen erzielt, gefolgt von PVC um 4,3 und Linoleum um 4,1 log-Stufen.

#### *Biofilm-Experimente*

In fünf Wiederholungsansätzen wurde in den Vorversuchen mit *Sp* ein Biofilm generiert. Die rückgewonnene Keimzahl war hier beim Keimträger Fliese mit  $1,5 \times 10^7$  CFU/Keimträger ( $1,0 \times 10^7$  CFU/Keimträger;  $2,8 \times 10^7$  CFU/Keimträger) am höchsten, gefolgt von Linoleum mit  $4,9 \times 10^6$  CFU/Keimträger ( $1,8 \times 10^6$  CFU/Keimträger;  $9,5 \times 10^6$  CFU/Keimträger) und PVC mit stets  $3,2 \times 10^6$  CFU/Keimträger.

#### *Mykologische Experimente*

Mit *Mc* Sporen wurden Wiederholungsversuche zunächst ohne Bedampfungsvorgang durchgeführt. Die Sporensuspension besaß hierbei eine Ausgangskonzentration von  $8,3 \times 10^6$  CFU/ml ( $3,6 \times 10^6$  CFU/ml;  $1,4 \times 10^7$  CFU/ml) und die Testflächen wurden mit  $8,3 \times 10^5$  CFU/Inokulum ( $3,6 \times 10^5$  CFU/Inokulum;  $1,4 \times 10^6$  CFU/Inokulum) beimpft. Die Trocknungsdauer bei Raumtemperatur betrug bei Fliesen 75,5 min, bei PVC 71,0 min und bei Linoleum 51,5 min. Die Rückgewinnungsraten nicht bedampfter Oberflächen entsprachen 0,2 % (Fliese), 0,3 % (PVC) und 1,2 % (Linoleum) der inokulierten Ausgangskeimzahl. Somit lagen die rückgewonnenen Keimzahlen bei Linoleum mit  $9,8 \times 10^3$  CFU/Keimträger ( $2,9 \times 10^3$  CFU/Keimträger;  $5,0 \times 10^4$  CFU/Keimträger) am höchsten, gefolgt von PVC mit  $2,3 \times 10^3$  CFU/Keimträger ( $4,7 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $5,8 \times 10^3$  CFU/Keimträger) und Fliese mit  $1,5 \times 10^3$  CFU/Keimträger ( $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $7,1 \times 10^3$  CFU/Keimträger).

In einer weiteren Vorversuchsreihe wurden die Konzentrationen an *Mc* Sporen

nach 1 s Bedampfungszeit überprüft. Die Sporensuspension besaß eine einheitliche Ausgangskonzentration von  $2,8 \times 10^7$  CFU/ml und alle Keimträger wurden mit  $2,8 \times 10^6$  CFU/ml beschickt. Die auf allen nicht bedampften Keimträgern (Negativkontrollen) rückgewonnene Keimzahl lag bei  $1,9 \times 10^4$  CFU/Keimträger und betrug somit noch 0,7 % der ursprünglich aufgetragenen Keimmenge. Nach Oberflächen aufgeschlüsselt zeigten die Negativkontrollen ähnliche Ausgangswerte von  $4,0 \times 10^4$  CFU/PVC,  $1,9 \times 10^4$  CFU/Linoleum und  $8,2 \times 10^3$  CFU/Fliese. In jedem Versuchsansatz waren jeweils zwei Keimzahlen bedampfter Oberflächen kleiner gleich der Nachweisgrenze. Die Keimrückgewinnungsrate lag bei allen bedampften Keimträgern stets bei  $2,0 \times 10^0$  CFU/Keimträger. Die höchste logarithmische Reduktion zeigte PVC mit 4,3 log-Stufen, gefolgt von Linoleum (4,0) und Fliese (3,6).

### 3. Ergebnisse der Laborstudie

#### 3.1 Bakteriologische Versuchsergebnisse

##### 3.1.1 McFarland-Experimente

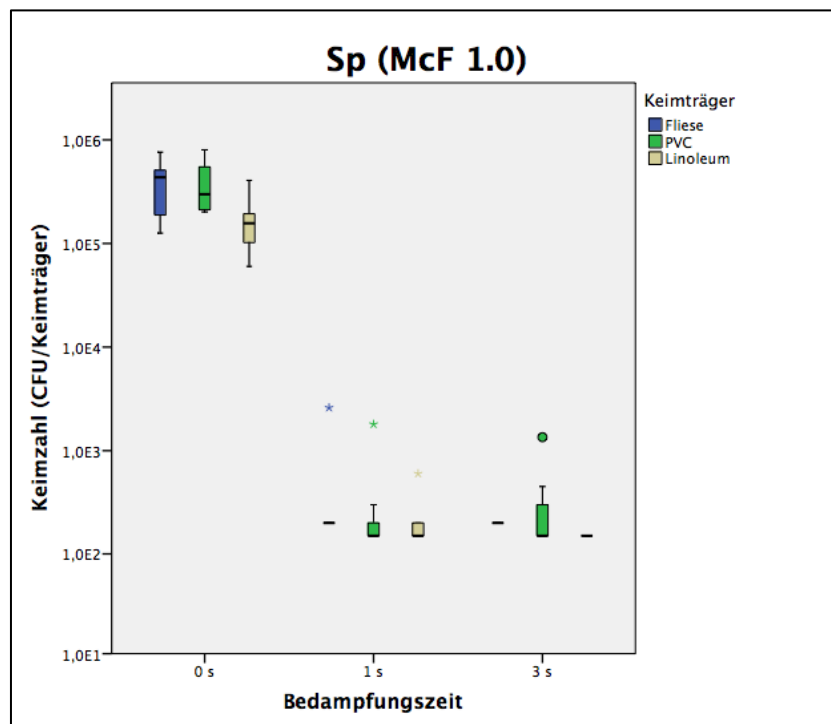
*Staphylococcus pseudintermedius* (McF 1.0)

Gearbeitet wurde bei *Sp* McF 1.0 mit einer Ausgangskonzentration von  $8,7 \times 10^7$  CFU/ml ( $8,4 \times 10^7$  CFU/ml;  $9,8 \times 10^7$  CFU/ml) und die Testflächen wurden mit  $2,2 \times 10^6$  CFU/Inokulum ( $2,1 \times 10^6$  CFU/Inokulum;  $2,4 \times 10^6$  CFU/Inokulum) beschickt. Die Trocknung der Keimträgerflächen dauerte beim Bodenbelag Fliese 10,5 min, bei PVC 14,0 min und bei Linoleum 10,0 min. Die auf allen Negativkontrollen (0 s) rückgewonnene Keimzahl lag bei  $2,2 \times 10^5$  CFU/Keimträger ( $1,7 \times 10^5$  CFU/Keimträger;  $4,8 \times 10^5$  CFU/Keimträger) und betrug somit noch 10,2 % der ursprünglich aufgetragenen Keimmenge. Hierbei konnten am meisten Staphylokokken beim Keimträger Fliese mit  $4,4 \times 10^5$  CFU/Keimträger ( $1,7 \times 10^5$  CFU/Keimträger;  $5,7 \times 10^5$  CFU/Keimträger) rückgewonnen werden, gefolgt von PVC mit  $3,1 \times 10^5$  CFU/Keimträger ( $2,1 \times 10^5$  CFU/Keimträger;  $6,1 \times 10^5$  CFU/Keimträger) und Linoleum mit  $1,6 \times 10^5$  CFU/Keimträger ( $9,2 \times 10^4$  CFU/Keimträger;  $2,5 \times 10^5$  CFU/Keimträger).

Es wurden zur Evaluation der keimreduzierenden Wirkung des Dampfsaugers zwei unterschiedliche Bedampfungszeiten untersucht. Bei 1 s Bedampfungszeit wiesen alle bedampften Keimträger insgesamt eine Keimzahl von  $2,0 \times 10^2$

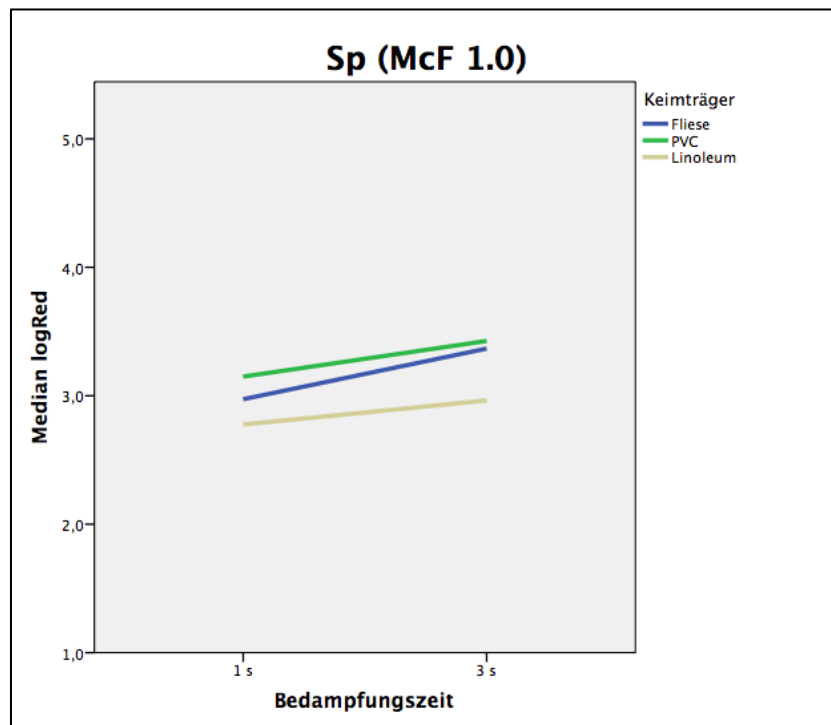
CFU/Keimträger ( $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $2,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger) und bei 3 s  $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger ( $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $2,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger) auf. Aufgeschlüsselt nach den drei unterschiedlichen Oberflächen wurden bei 1 und 3 s Bedampfungszeit beim Bodentyp Fliese am meisten Keime mit stets  $2,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger rückgewonnen, während PVC und Linoleum jeweils nur noch  $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger zeigten ( $1,5 \times 10^2$  CFU/PVC;  $2,5 \times 10^2$  CFU/PVC;  $1,5 \times 10^2$  CFU/Linoleum;  $2,0 \times 10^2$  CFU/Linoleum) (Abb. 12). Kleiner gleich der Nachweisgrenze waren bei 1 s Bedampfungszeit acht von neun bedampften Fliesen, sieben von neun bedampften PVC- und sieben von acht untersuchten Linoleumstücken (insgesamt 22 Stück). Bei dreisekündiger Bedampfung waren es alle untersuchten Fliesen- und Linoleumstücke und sechs von neun PVC-Stücken (insgesamt 23 Stück).

Der Unterschied zwischen der Ausgangskonzentration (0 s) und der Keimrückgewinnungsrate nach 1 s bzw. 3 s war signifikant. Zudem war der Unterschied zwischen 1 s und 3 s Bedampfungszeit signifikant, wobei bei 3 s eine bessere Keimreduktion erzielt werden konnte.



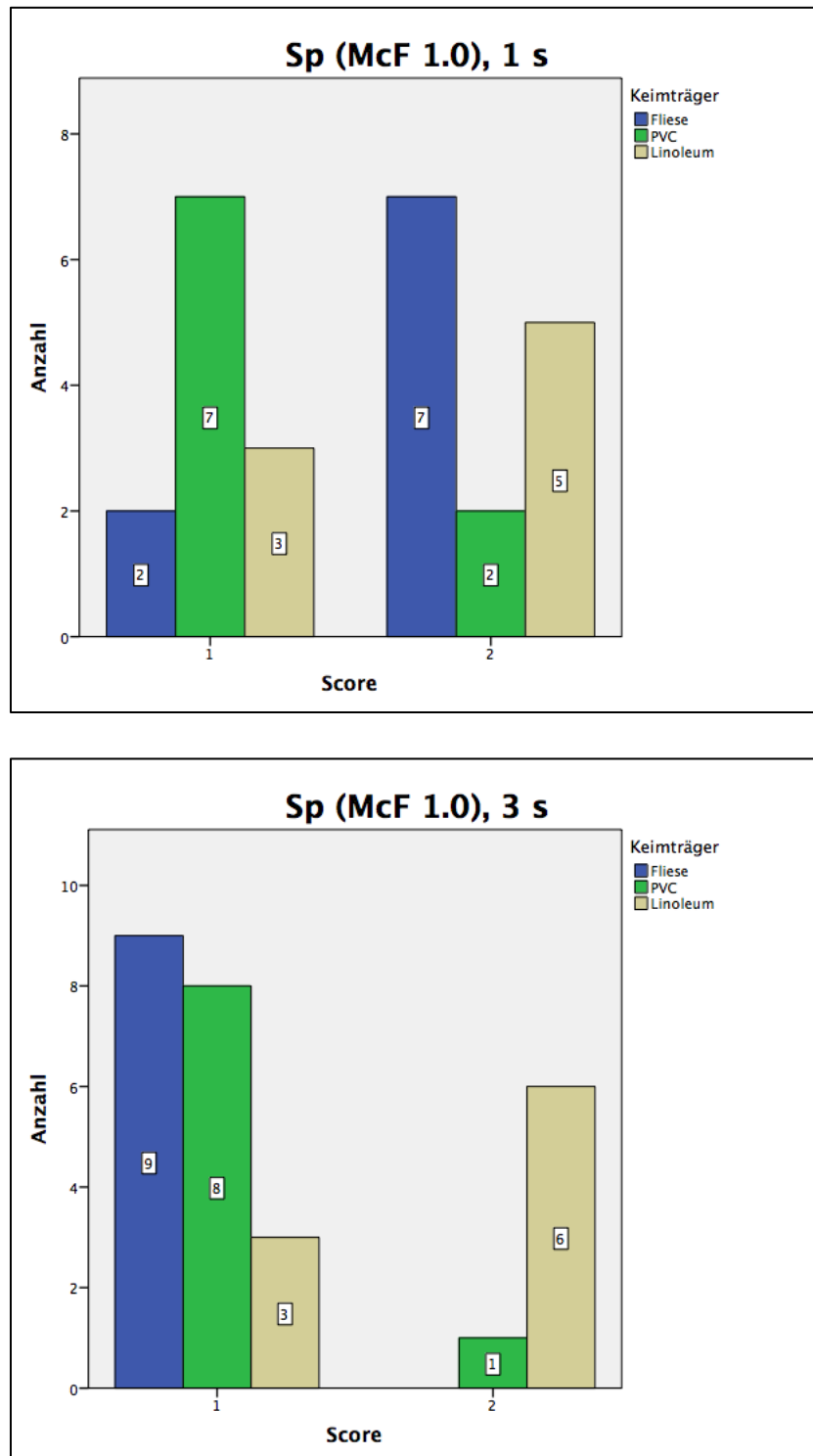
**Abb. 12:** Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s, 3 s) Oberflächen beimpft mit *Sp* (McF 1.0) aufgeteilt nach Keimträgern

Beim Keimträger PVC wurde die höchste logarithmische Reduktion um mind. 3,1 (2,9; 3,2) log-Stufen (99,93 %) bei 1 s bzw. mind. 3,4 (3,2; 3,6) log-Stufen (99,96 %) bei 3 s erzielt. Am zweitbesten wurde *Sp* auf der Fliesenoberfläche bei 1 s um mind. 3,0 (2,8; 3,2) log-Stufen (99,89 %) bzw. bei 3 s um mind. 3,4 (3,3; 3,6) log-Stufen (99,96 %) reduziert. Linoleum steht mit einer Reduktion um mind. 2,8 (2,6; 3,4) log-Stufen (99,82 %) bei 1 s bzw. mind. 3,0 (2,8; 3,1) log-Stufen (99,89 %) bei 3 s an dritter Stelle (Abb. 13).



**Abb. 13:** Logarithmische Darstellung der medianen logarithmischen Reduktion nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern beimpft mit *Sp* (McF 1.0)

In Abb. 14 sind die Reduktionsergebnisse eingeteilt nach Scores dargestellt. Score 1 wurde bei 1 s Bedampfungszeit am häufigsten von PVC (siebenmal), gefolgt von Linoleum (dreimal), und Fliese (zweimal) erreicht, während hingegen sieben Fliesen, fünf Linoleum- und zwei PVC-Stücke Score 2 erzielten. Nach dreisekündiger Bedampfung erlangten statt zwölf insgesamt 20 Oberflächen Score 1. Dies gelang am häufigsten Fliesen (neunmal), gefolgt von PVC (achtmal) und Linoleum (dreimal). Score 2 erzielte Linoleum bei 3 s sechsmal und PVC einmal. Die Reduktionsergebnisse waren niemals kleiner 99,0 % (Score 3 und 4).



**Abb. 14:** Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Oberflächen beimpft mit *Sp* (McF 1.0) nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern (absolute Werte)

#### *Staphylococcus pseudintermedius* (McF 4.0)

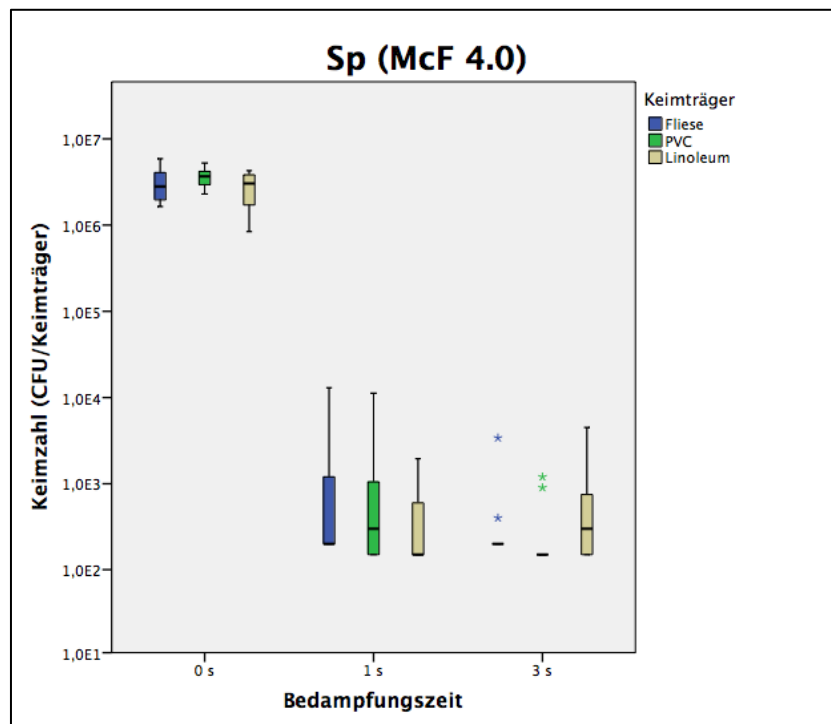
In der höheren Konzentration (McF 4.0) wies die *Sp* Testkeimsuspension  $5,7 \times 10^8$  CFU/ml ( $4,4 \times 10^8$  CFU/ml;  $7,5 \times 10^8$  CFU/ml) auf und die Oberflächen wurden mit  $1,4 \times 10^7$  CFU/Inokulum ( $1,1 \times 10^7$  CFU/Inokulum;  $1,9 \times 10^7$

CFU/Inokulum) kontaminiert. Bei Raumtemperatur wurde die Oberfläche Fliese 9,0 min, PVC 12,0 min und Linoleum 9,0 min getrocknet. Alle Negativkontrollen besaßen insgesamt  $3,3 \times 10^6$  CFU/Keimträger ( $2,1 \times 10^6$  CFU/Keimträger;  $4,2 \times 10^6$  CFU/Keimträger), was 23,5 % der ursprünglich inokulierten Anzahl entspricht. Die höchste Keimzahl konnte hierbei beim Keimträger PVC mit  $3,7 \times 10^6$  CFU/Keimträger ( $2,8 \times 10^6$  CFU/Keimträger;  $4,5 \times 10^6$  CFU/Keimträger) rückgewonnen werden, gefolgt von Linoleum mit  $3,1 \times 10^6$  CFU/Keimträger ( $1,5 \times 10^6$  CFU/Keimträger;  $3,9 \times 10^6$  CFU/Keimträger) und Fliese mit  $2,9 \times 10^6$  CFU/Keimträger ( $1,9 \times 10^6$  CFU/Keimträger;  $4,5 \times 10^6$  CFU/Keimträger).

Die Testflächen hatten insgesamt sowohl nach 1 s Bedampfung eine Konzentration von  $2,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger ( $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $1,2 \times 10^3$  CFU/Keimträger) als auch nach 3 s ( $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $4,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger). Beim Keimträger Fliese blieb die Keimzahl mit  $2,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger sowohl bei 1 s als auch bei 3 s konstant (1 s:  $2,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $1,2 \times 10^3$  CFU/Keimträger; 3 s:  $2,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $3,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger). Dagegen konnten beim Keimträger PVC bei 1 s mit  $3,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger ( $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $1,4 \times 10^3$  CFU/Keimträger) am meisten Keime rückgewonnen werden, während dieser Bodentyp bei 3 s die niedrigste Keimzahl mit  $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger ( $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $5,3 \times 10^2$  CFU/Keimträger) erreichte. Linoleum wies bei 1 s die niedrigste Konzentration mit  $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger ( $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $1,1 \times 10^3$  CFU/Keimträger) auf, während bei 3 s die Höchste mit  $3,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger ( $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $9,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger) zu verzeichnen war (Abb. 15). Kleiner gleich der Nachweisgrenze waren bei 1 s Bedampfungszeit sechs von neun bedampften Linoleumstücken, fünf von neun bedampften Fliesen und drei von neun bedampften PVC-Stücken (insgesamt 14). Bei dreisekündiger Bedampfung waren es sieben von neun untersuchten Fliesen- und PVC-Stücken und vier von neun Linoleum-Stücken (insgesamt 18).

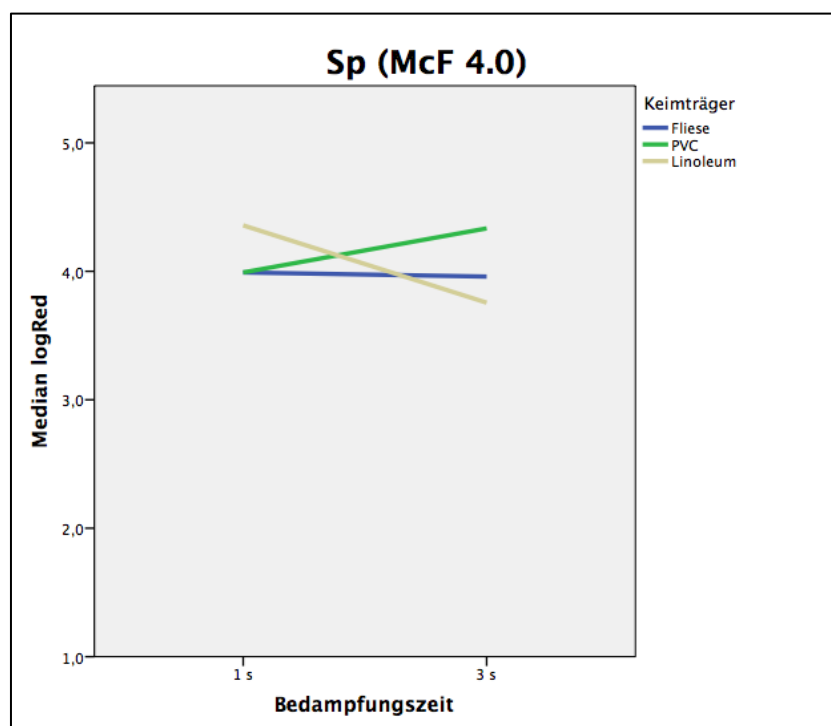
Auch in diesem Versuchsansatz wurde eine hoch signifikante Reduktion der Ausgangskeimzahl (0 s) zu 1 s bzw. zu 3 s nachgewiesen, während der Unterschied zwischen 1 s und 3 s Bedampfungszeit nicht signifikant war.





**Abb. 15:** Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s, 3 s) Oberflächen beimpft mit *Sp* (McF 4.0) aufgeteilt nach Keimträgern

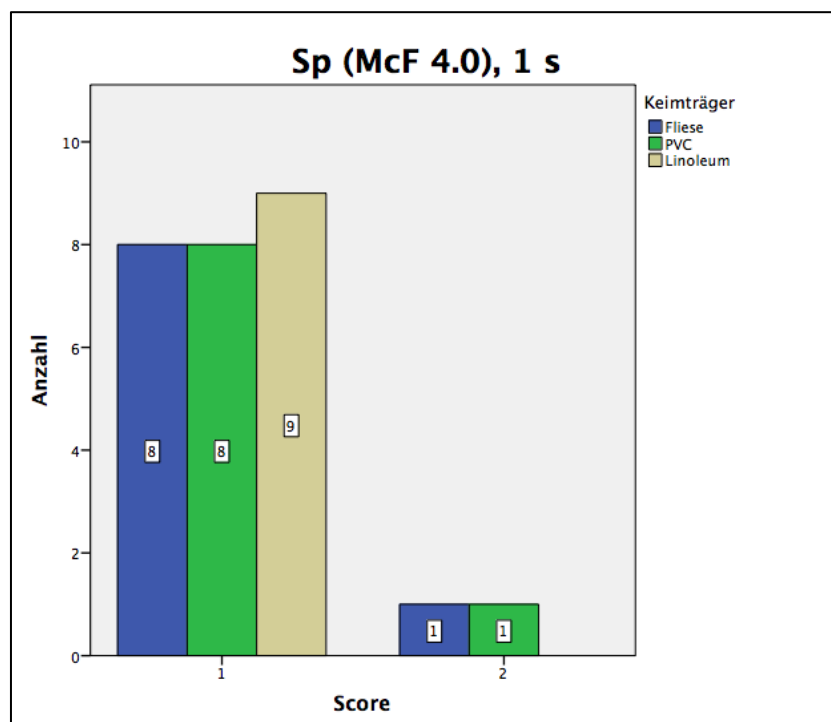
In Abb. 16 sind die erzielten log-Reduktionen graphisch dargestellt.



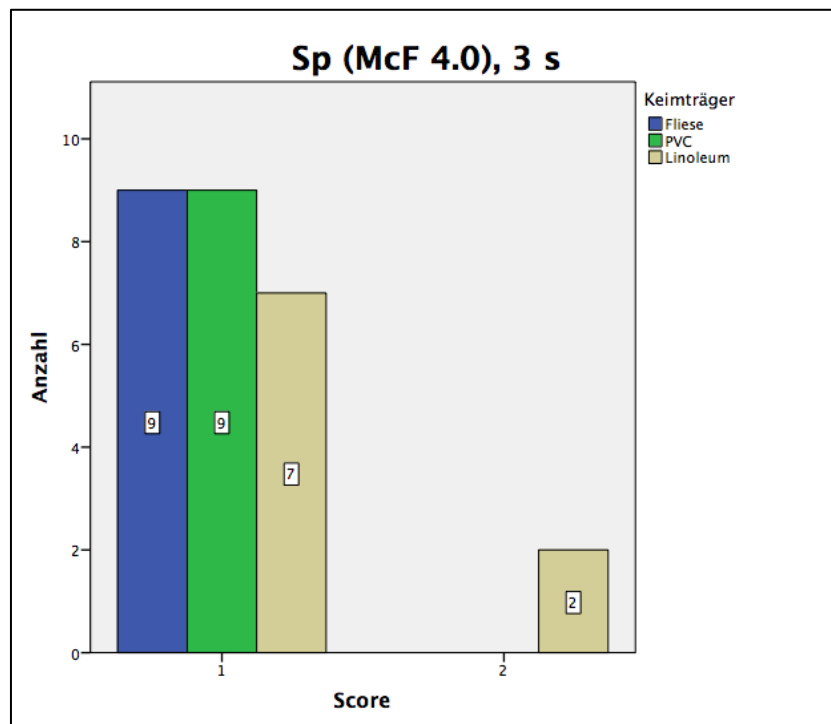
**Abb. 16:** Logarithmische Darstellung der medianen logarithmischen Reduktion nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern beimpft mit *Sp* (McF 4.0)

Beim Keimträger Fliese wurde in diesem Versuchsansatz eine log-Reduktion um mind. 4,0 (3,2; 4,3) log-Stufen (99,99 %) bei 1 s und 3 s erreicht (3,9; 4,5). Am besten wurde *Sp* auf den PVC-Oberflächen bei 3 s um mind. 4,3 (3,8; 4,5) log-Stufen (100 %) reduziert, bei 1 s hingegen ähnlich der Fliese um 4,0 (3,4; 4,5) log-Stufen (99,99 %). Linoleum zeigte bei 1 s die beste Reduktion um mind. 4,4 (3,5; 4,4) log-Stufen (100 %), jedoch bei 3 s die schlechteste Reduktion um 3,8 (3,0; 4,3) log-Stufen (99,98 %).

Auch in diesem Versuchsansatz wurde das Scoring-System angewendet (Abb. 17). Score 1 wurde bei 1 s Bedampfungszeit von Fliese und PVC gleichhäufig (jeweils achtmal) erreicht, während Linoleum Score 1 am häufigsten (neunmal) erzielte. Fliese und PVC bekamen jeweils einmal Score 2. Nach 3 s Bedampfung erlangten insgesamt gleich viele Oberflächen Score 1 und 2. Am häufigsten gelang Score 1 bei 3 s Fliese und PVC (jeweils neunmal), gefolgt von Linoleum (siebenmal). Score 2 erzielte nur Linoleum zweimal. Die Reduktionsergebnisse waren auch hier niemals kleiner 99,0 % (Score 3 und 4) (Abb. 17).



**Abb. 17:** Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Oberflächen beimpft mit *Sp* (McF 4.0) nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern (absolute Werte)



**Abb. 17:** Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Oberflächen beimpft mit *Sp* (McF 4.0) nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern (absolute Werte)

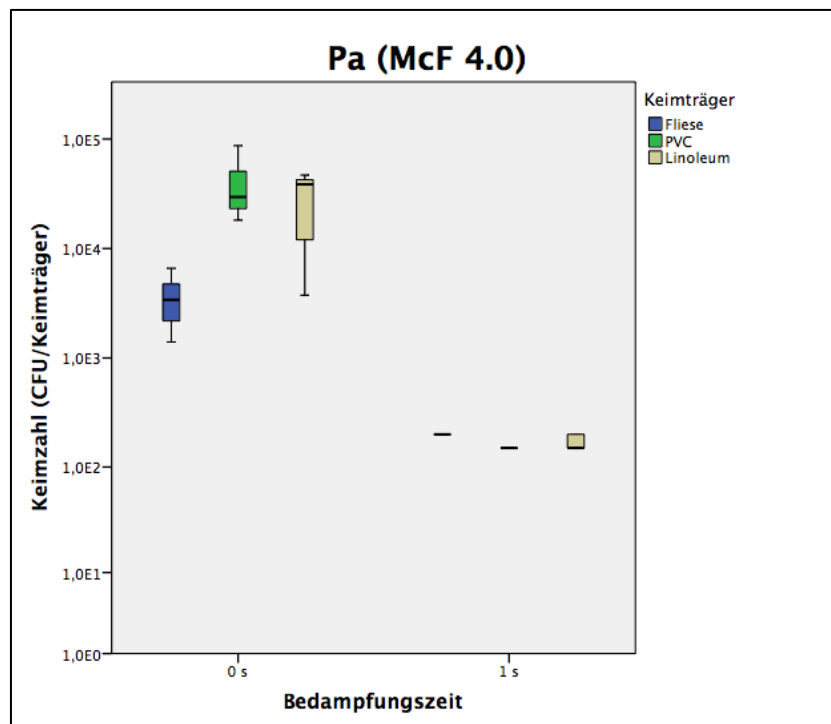
#### *Pseudomonas aeruginosa* (McF 4.0)

Die folgende Versuchsreihe wurde mit *Pa* in einer Konzentration von McF 4.0 und einer einheitlichen Bedampfungszeit von 1 s durchgeführt. Ausschließlich diese Versuchskonstellation führte bei *Pa* zu signifikanten Versuchsergebnissen. Die Konzentration der Ausgangslösung lag bei  $7,6 \times 10^8$  CFU/ml ( $5,5 \times 10^8$  CFU/ml;  $1,6 \times 10^9$  CFU/ml), woraus die Keimträger mit  $1,9 \times 10^7$  CFU/Inokulum ( $1,4 \times 10^7$  CFU/Inokulum;  $4,0 \times 10^7$  CFU/Inokulum) kontaminiert wurden. Die Trocknung dauerte im Anschluss beim Keimträger Fliese 10,0 min, bei PVC 16,0 min und bei Linoleum 8,0 min. Alle nicht bedampften Keimträger wiesen insgesamt eine Keimzahl von  $1,8 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $3,6 \times 10^3$  CFU/Keimträger;  $4,3 \times 10^4$  CFU/Keimträger) auf und diese betrug somit 0,1 % der ursprünglich inokulierten Keimmenge. Am meisten Mikroorganismen konnten bei den Negativkontrollen von Linoleum mit  $3,9 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $3,8 \times 10^3$  CFU/Keimträger), gefolgt von PVC mit  $3,0 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $1,8 \times 10^4$  CFU/Keimträger) und Fliese mit  $3,4 \times 10^3$  CFU/Keimträger ( $1,4 \times 10^3$  CFU/Keimträger), rückgewonnen werden.

Alle einsekündig bedampften Oberflächenarten zeigten insgesamt eine Keimzahl von  $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger ( $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger;

$2,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger), wobei nach 1 s beim Keimträger Fliese noch am meisten Keime mit stets  $2,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger rückgewonnen werden konnten. Hingegen zeigten PVC und Linoleum jeweils eine Keimzahl von  $1,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger auf ( $1,5 \times 10^2$  CFU/PVC;  $1,5 \times 10^2$  CFU/PVC;  $1,5 \times 10^2$  CFU/Linoleum;  $2,0 \times 10^2$  CFU/Linoleum) (Abb. 18).

In diesem Versuchsansatz lagen bei 99,0 % (26 von 27) der untersuchten Fälle die Keimzahlen unterhalb der Nachweisgrenze und es konnten keine Mikroorganismen mehr nachgewiesen werden. Die Keimzahlreduktion von 0 s zu 1 s Bedampfungszeit war hierbei hoch signifikant.

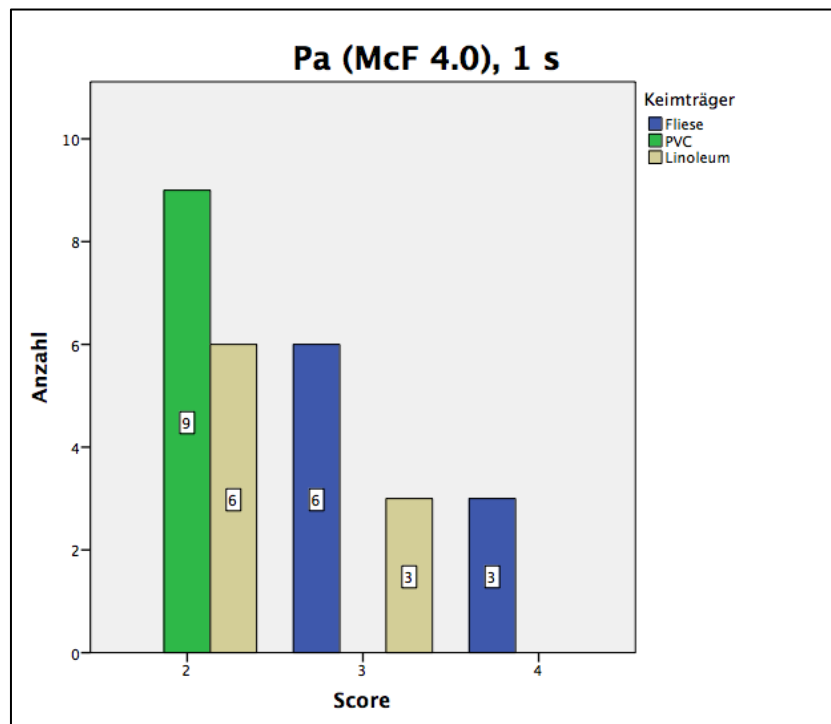


**Abb. 18:** Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s) Oberflächen beimpft mit *Pa* (McF 4.0) aufgeteilt nach Keimträgern

Beim Keimträger PVC und Linoleum wurde die höchste log-Reduktion um jeweils mind. 2,3 (PVC: 2,1; 2,8; Linoleum: 1,4; 2,5) log-Stufen (PVC: 99,49 %; Linoleum: 99,48 %) erreicht. *Pa* konnte auf den untersuchten Fliesenoberflächen bei 1 s am wenigsten stark reduziert werden mit mind. 1,2 (0,8; 1,5) log-Stufen (94,12 %).

In Abb. 19 sind die Reduktionsergebnisse entsprechend des Scoring-Systems aufgeführt. Score 1 wurde bei keinem Keimträger erreicht. Score 2 erzielte PVC

am häufigsten (neunmal), gefolgt von Linoleum (sechsmal). Die Testfläche Linoleum erhielt zudem dreimal Score 3. Am niedrigsten waren die erreichten Scores beim Keimträger Fliese mit insgesamt sechsmal Score 3 und dreimal Score 4.



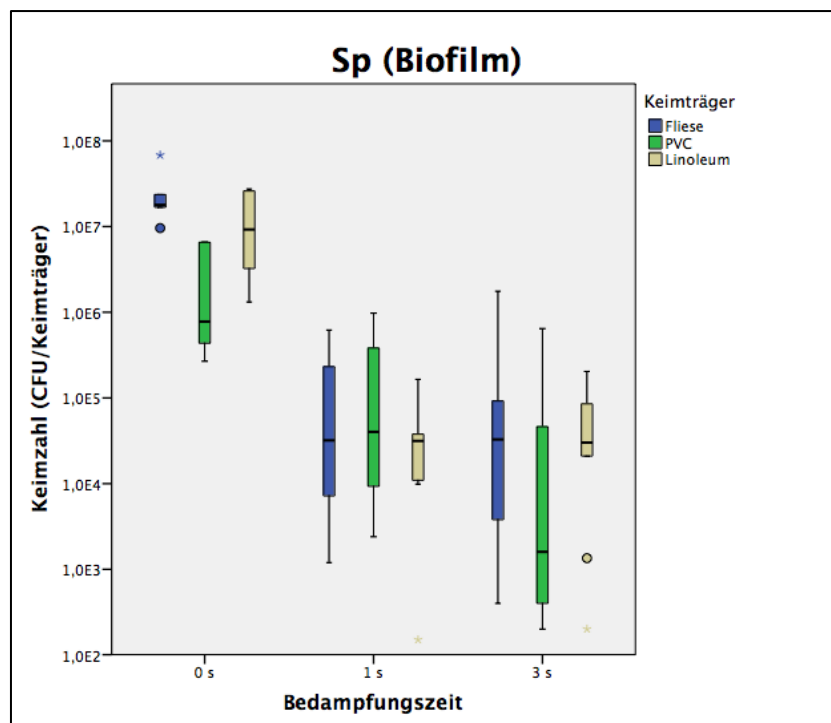
**Abb. 19:** Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Oberflächen beimpft mit *Pa* (McF 4.0) nach 1 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern (absolute Werte)

### 3.1.2 Biofilm-Experimente

#### *Staphylococcus pseudintermedius* (Biofilm)

In der Versuchsreihe mit über Nacht generiertem Biofilm wiesen die mit *Sp* beimpften Kontrollkeimträger nach Rückgewinnung eine Keimzahl von  $8,1 \times 10^6$  CFU/Keimträger ( $1,3 \times 10^6$  CFU/Keimträger;  $1,9 \times 10^7$  CFU/Keimträger) auf. Die Trocknungsdauer betrug bei Fliese 52,5 min, bei PVC 47,5 min und bei Linoleum 45,5 min. Die meisten Mikroorganismen konnten hierbei von der Testfläche Fliese mit  $1,8 \times 10^7$  CFU/Keimträger ( $1,5 \times 10^7$  CFU/Keimträger;  $3,5 \times 10^7$  CFU/Keimträger) isoliert werden, gefolgt von Linoleum mit  $1,0 \times 10^7$  CFU/Keimträger ( $2,8 \times 10^6$  CFU/Keimträger;  $2,6 \times 10^7$  CFU/Keimträger) und PVC mit  $8,3 \times 10^5$  CFU/Keimträger ( $3,9 \times 10^5$  CFU/Keimträger;  $6,6 \times 10^6$  CFU/Keimträger).

Die Effekte durch das Dampfreinigungsgerät wurden auch hier durch zwei unterschiedliche Bedampfungszeiten bestimmt. Nach 1 s wiesen die Oberflächen insgesamt noch eine Kontamination von  $3,2 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $9,3 \times 10^3$  CFU/Keimträger;  $1,7 \times 10^5$  CFU/Keimträger) auf, während diese bei 3 s etwas niedriger bei  $2,2 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $6,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $9,2 \times 10^4$  CFU/Keimträger) lag. Die beiden Testflächen Fliese und Linoleum zeigten nach 1 s Bedampfung die niedrigsten Keimzahlen mit  $3,2 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $6,0 \times 10^3$  CFU/Fliese;  $3,0 \times 10^5$  CFU/Fliese;  $1,0 \times 10^4$  CFU/Linoleum;  $6,3 \times 10^4$  CFU/Linoleum). Eine etwas höhere Keimzahl konnte von PVC mit  $4,0 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $5,9 \times 10^3$  CFU/Keimträger;  $4,0 \times 10^5$  CFU/Keimträger) isoliert werden. Bei 3 s Bedampfungszeit reduzierte sich die Anzahl bei den PVC-Oberflächen auf die niedrigste erreichte Kontamination mit  $1,6 \times 10^3$  CFU/Keimträger ( $3,5 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $2,6 \times 10^5$  CFU/Keimträger), gefolgt von Linoleum mit  $3,0 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $1,1 \times 10^4$  CFU/Keimträger;  $9,1 \times 10^4$  CFU/Keimträger) und Fliese mit  $3,3 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $2,2 \times 10^3$  CFU/Keimträger;  $5,8 \times 10^5$  CFU/Keimträger) (Abb. 20).

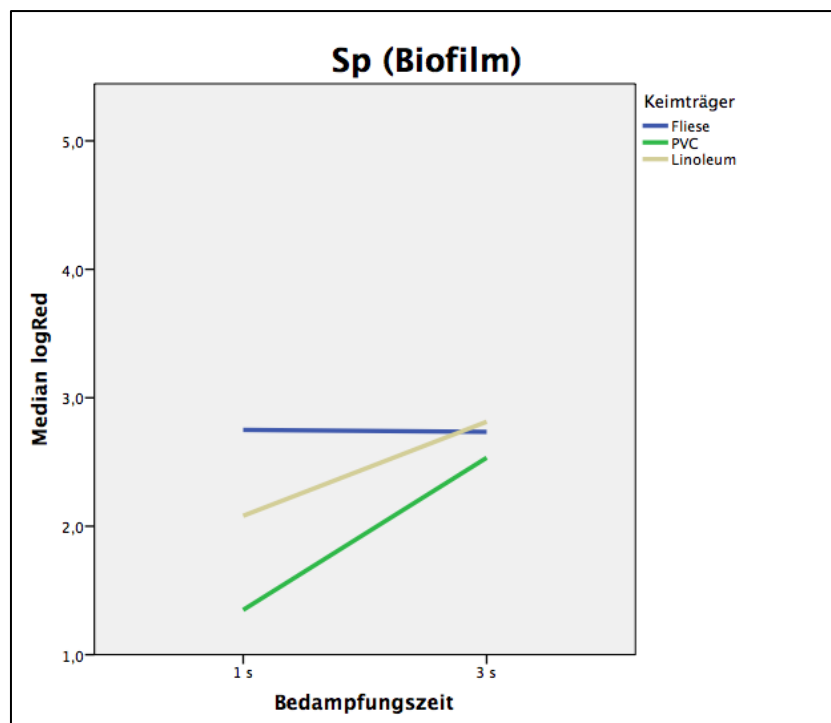


**Abb. 20:** Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s, 3 s) Oberflächen mit über Nacht generiertem Biofilm (*Sp*) aufgeteilt nach Keimträgern

Kleiner gleich der Nachweisgrenze war bei 1 s Bedampfungszeit einer von neun untersuchten Linoleumböden, jedoch keine Fliesen- und PVC-Oberfläche. Bei dreisekündiger Bedampfung lagen insgesamt zwei Böden (einmal Linoleum und PVC) unterhalb der Nachweisgrenze.

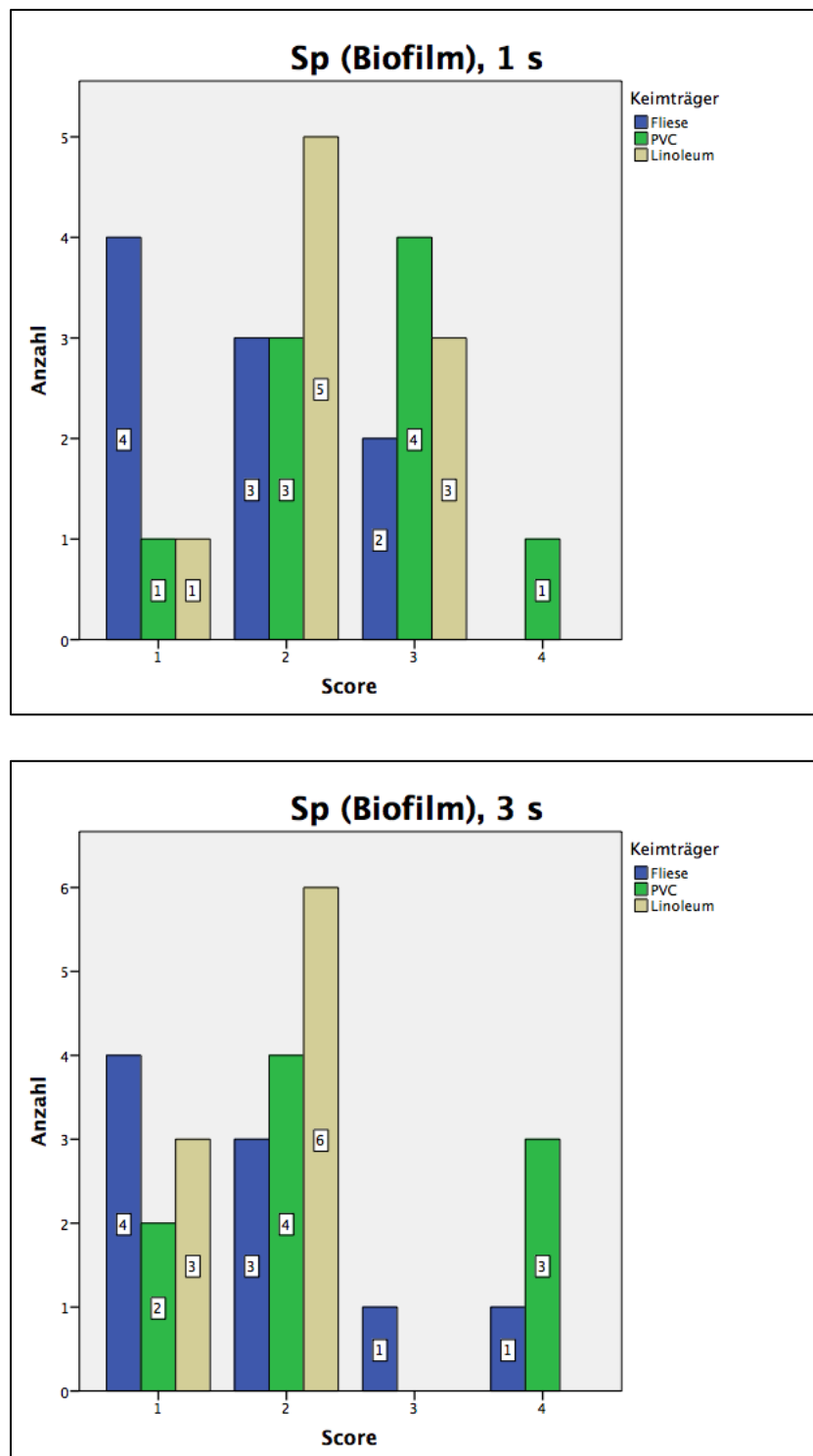
Im Biofilmansatz wurde die Reduktion der ursprünglichen Ausgangskeimzahl (0 s) zu 1 bzw. 3 s als hoch signifikant getestet. Zwischen 1 s und 3 s Bedampfungszeit bestand ebenfalls ein signifikanter Unterschied zugunsten von 3 s.

Die höchste log-Reduktion wurde beim Keimträger Fliese um 2,8 (1,9; 3,8) log-Stufen (99,82 %) bei 1 s bzw. die zweithöchste Reduktion um 2,7 (1,7; 3,9) log-Stufen (99,82 %) bei 3 s verzeichnet. Eine etwas höhere Keimreduktion erreichte Linoleum bei 3 s mit 2,8 (2,5; 3,6) log-Stufen (99,85 %) und verbesserte sich somit im Vergleich zu 1 s, bei welcher die log-Reduktion bei 2,1 (1,4; 2,5) log-Stufen (99,17 %) lag. Die dritte Testoberfläche PVC erzielte sowohl bei 1 s das niedrigste Ergebnis mit 1,3 (1,1; 2,6) log-Stufen (95,52 %) Reduktion als auch bei 3 s mit 2,5 (0,5; 3,1) log-Stufen (99,71 %) (Abb. 21).



**Abb. 21:** Logarithmische Darstellung der medianen logarithmischen Reduktion nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern mit über Nacht generiertem Biofilm (*Sp*)

In Abb. 22 sind nun die Reduktionsergebnisse in unterschiedliche Kategorien eingeordnet.



**Abb. 22:** Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Oberflächen mit über Nacht generiertem Biofilm (*Sp*) nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern (absolute Werte)



Bei 1 s Bedampfungszeit wurde Score 1 am häufigsten von Fliese (viermal), gefolgt von PVC und Linoleum (jeweils einmal) erzielt. Score 2 wurde fünfmal von Linoleum und jeweils dreimal von Fliese und PVC erreicht. Score 3 bekam PVC viermal, Linoleum dreimal und Fliese zweimal. Score 4 hingegen verzeichnete nur einmal PVC. Nach dreisekündiger Bedampfung erlangten statt sechs insgesamt neun Keimträger Score 1. Dies gelang am häufigsten Fliesen (viermal), gefolgt von Linoleum (dreimal) und PVC (zweimal). Score 2 erzielte Linoleum sechsmal, PVC viermal und Fliese dreimal. Eine Fliese wurde in Score 3 und 4 eingestuft. Score 4 erlangten zudem drei PVC-Testflächen. Somit wurden in diesem Versuchsansatz alle vier Scores erreicht.

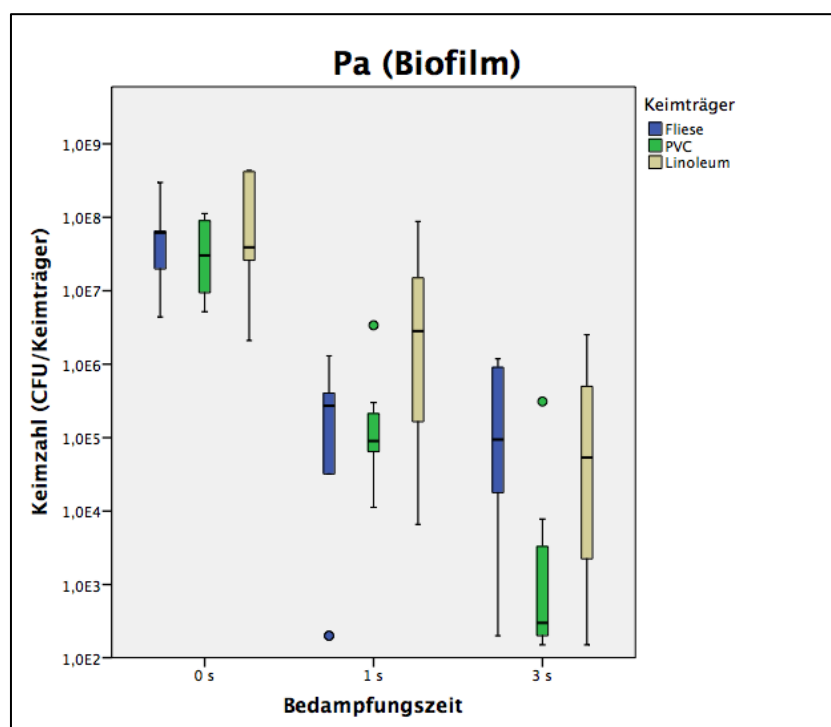
#### *Pseudomonas aeruginosa* (Biofilm)

Mit *Pa* beimpfte, nicht bedampfte Testflächen erreichten nach deren Rückgewinnung insgesamt eine Konzentration von  $4,7 \times 10^7$  CFU/Keimträger ( $1,6 \times 10^7$  CFU/Keimträger;  $9,6 \times 10^7$  CFU/Keimträger). Die Trocknung der Kontaminationsflüssigkeiten dauerte in diesem Ansatz bei Fliese 53,0 min, bei PVC 58,0 min und bei Linoleum 53,5 min. Hierbei wurde die höchste Ausgangskonzentration von der Oberfläche Fliese isoliert mit  $6,2 \times 10^7$  CFU/Keimträger ( $1,6 \times 10^7$  CFU/Keimträger;  $1,2 \times 10^8$  CFU/Keimträger), gefolgt von Linoleum mit  $3,9 \times 10^7$  CFU/Keimträger ( $2,0 \times 10^7$  CFU/Keimträger;  $4,2 \times 10^8$  CFU/Keimträger) und PVC mit  $3,4 \times 10^7$  CFU/Keimträger ( $8,3 \times 10^6$  CFU/Keimträger;  $9,6 \times 10^7$  CFU/Keimträger).

Alle einsekündig bedampften Testflächen wiesen eine Konzentration von  $2,1 \times 10^5$  CFU/Keimträger ( $3,2 \times 10^4$  CFU/Keimträger;  $1,3 \times 10^6$  CFU/Keimträger) auf, während diese bei 3 s mit  $2,6 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $2,8 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $4,4 \times 10^5$  CFU/Keimträger) niedriger angesiedelt war. Die niedrigsten Keimzahlen wurden sowohl bei 1 s mit  $9,0 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $3,8 \times 10^4$  CFU/Keimträger;  $2,6 \times 10^5$  CFU/Keimträger) als auch bei 3 s mit  $3,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger ( $2,0 \times 10^2$  CFU/Keimträger;  $5,6 \times 10^3$  CFU/Keimträger) beim Bodentyp PVC rückgewonnen. Fliesenoberflächen wiesen die zweithöchste Keimzahl nach 1 s Bedampfung mit  $2,7 \times 10^5$  CFU/Keimträger ( $1,6 \times 10^4$  CFU/Keimträger;  $5,8 \times 10^5$  CFU/Keimträger) auf, während sie nach 3 s mit  $9,4 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $9,5 \times 10^3$  CFU/Keimträger;  $9,9 \times 10^5$  CFU/Keimträger) noch die höchste Kontamination zeigten. Linoleum hingegen erreichte nach 1 s Bedampfungszeit die höchste Keimkonzentration mit  $2,8 \times 10^6$

CFU/Keimträger ( $9,8 \times 10^4$  CFU/Keimträger;  $5,0 \times 10^7$  CFU/Keimträger), während nach 3 s eine ähnliche Keimzahl wie beim Keimträger Fliese mit  $5,4 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $8,4 \times 10^3$  CFU/Keimträger;  $1,6 \times 10^6$  CFU/Keimträger) zu verzeichnen war (Abb. 23).

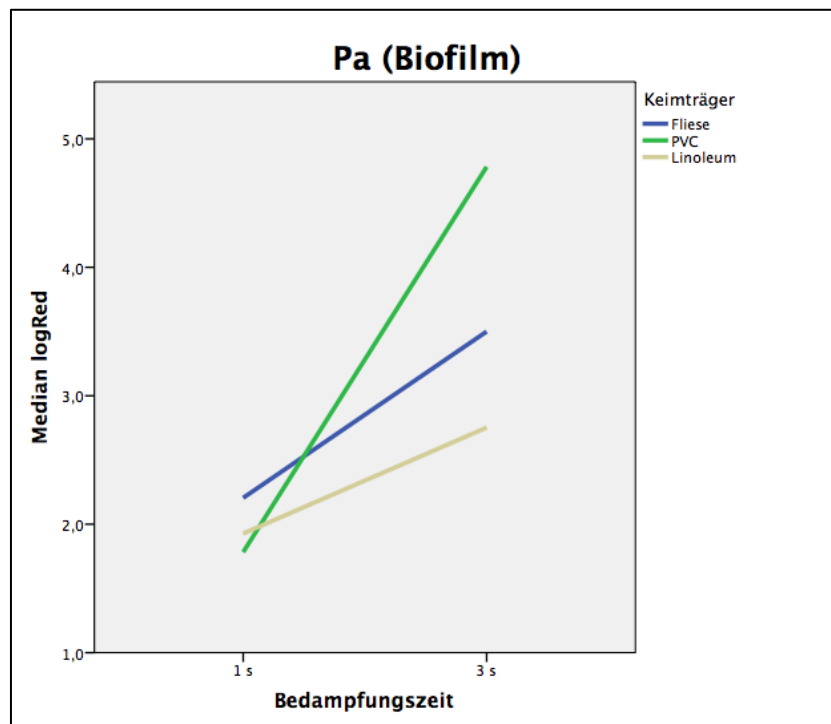
Unterhalb der Nachweisgrenze waren bei 1 s Bedampfungszeit nur zwei von neun Fliesenoberflächen und bei 3 s eine von neun getesteten Fliesen, drei von neun PVC- und zwei von acht Linoleumböden (insgesamt sechsmal). In einem Fall (Linoleum, 3 s) lag die Konzentration des bedampften Bodens über der dazu in Bezug stehenden Ausgangskeimzahl.



**Abb. 23:** Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s, 3 s) Oberflächen mit über Nacht generiertem Biofilm (*Pa*) aufgeteilt nach Keimträgern

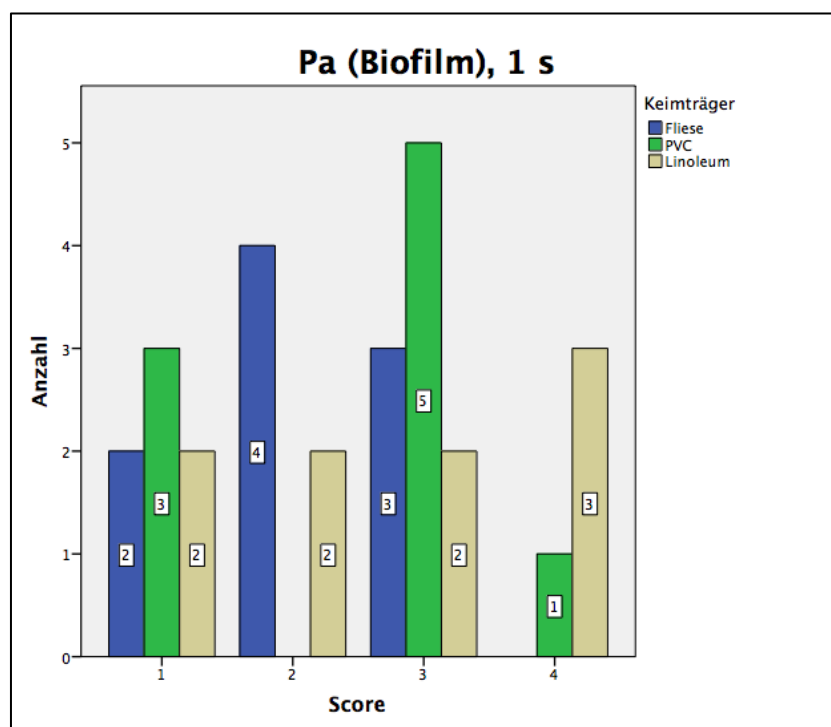
Die Reduktion von 0 s zu 1 bzw. zu 3 s war hoch signifikant. Die Verbesserung der Keimreduktion von 1 s auf 3 s wurde als nicht signifikant getestet.

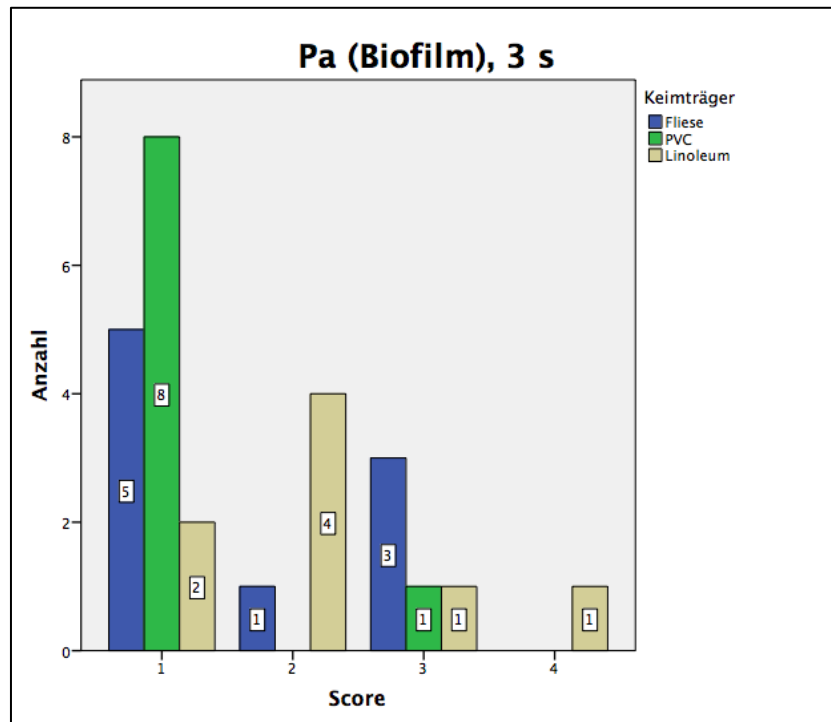
Bei der Testoberfläche Fliese wurde die höchste log-Reduktion um 2,2 (1,9; 3,3) log-Stufen (99,38 %) bei 1 s, gefolgt von Linoleum um 1,9 (0,7; 3,2) log-Stufen (98,82 %) und PVC um 1,8 (1,4; 3,5) log-Stufen (98,35 %) erreicht. Bei 3 s hingegen verzeichneten PVC-Böden die höchste log-Reduktion um 4,8 (3,9; 5,6) log-Stufen (100 %), gefolgt von Fliese um 3,5 (1,8; 4,2) (99,97 %) und Linoleum um 2,8 (1,4; 3,9) (99,81 %) (Abb. 24).



**Abb. 24:** Logarithmische Darstellung der medianen logarithmischen Reduktion nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern mit über Nacht generiertem Biofilm (*Pa*)

Die Versuchsergebnisse aufgeteilt nach Scores sind in Abb. 25 graphisch dargestellt.





**Abb. 25:** Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Oberflächen mit über Nacht generiertem Biofilm (*Pa*) nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern (absolute Werte)

Score 1 wurde bei 1 s Bedampfungszeit am häufigsten von PVC (dreimal), gefolgt von Linoleum und Fliese (jeweils zweimal) erreicht. Score 2 bekamen vier Fliesen- und zwei Linoleumboflächen, Score 3 fünf PVC-, drei Fliesen- und zwei Linoleumböden. Den niedrigsten Score (4) verzeichneten drei Linoleumboflächen und ein PVC-Boden. Nach dreisekündiger Bedampfung erlangten statt sieben insgesamt 15 Oberflächen Score 1. Dies gelang am häufigsten PVC (achtmal), gefolgt von Fliese (fünfmal) und Linoleum (zweimal). Score 2 erzielte Linoleum viermal und Fliese einmal. Score 3 bekam Fliese dreimal, PVC und Linoleum jeweils einmal und Score 4 eine Linoleumbofläche.

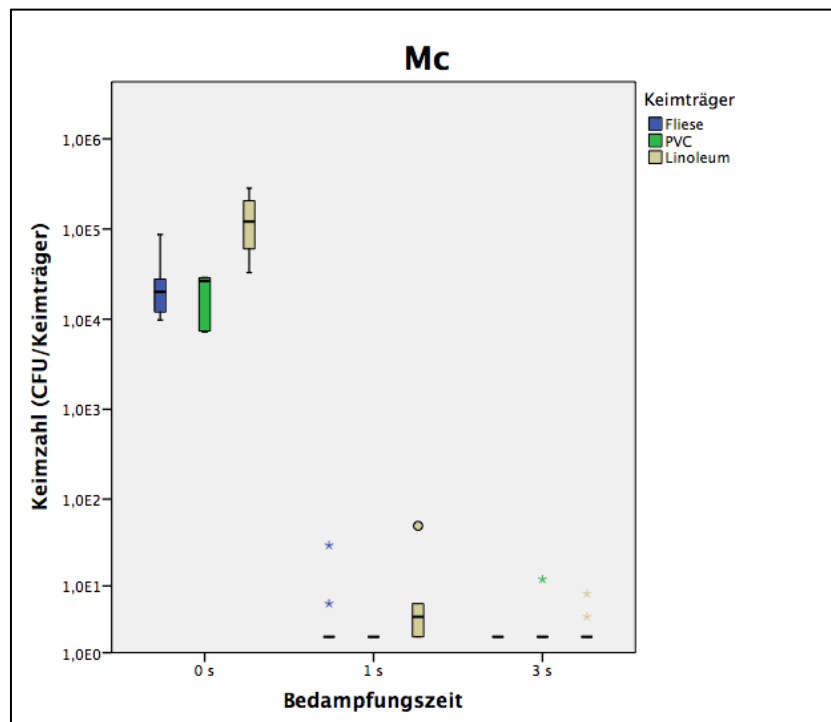
### 3.2 Mykologische Versuchsergebnisse

#### *Microsporium canis*

Die mykologischen Untersuchungen wurden mit *Mc* Sporen durchgeführt. Die Ausgangskonzentration der Sporenstammkultur betrug  $1,0 \times 10^7$  CFU/ml ( $8,0 \times 10^6$  CFU/ml;  $1,2 \times 10^7$  CFU/ml) und die Kontaminationsmenge der Keimträger  $1,0 \times 10^6$  CFU/Inokulum ( $8,0 \times 10^5$  CFU/Inokulum;  $1,2 \times 10^6$  CFU/Inokulum). Getrocknet wurde die Oberfläche Fliese 72,5 min, PVC 69,0 min und Linoleum 54,0 min. Auf allen Negativkontrollen wurde eine Keimzahl von  $2,8 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $1,4 \times 10^4$  CFU/Keimträger;  $9,0 \times 10^4$

CFU/Keimträger) rückgewonnen und diese betrug somit 2,8 % der ursprünglich aufgetragenen Keimmenge. Am meisten *Mc* Sporen wiesen nicht bedampfte Linoleumstücke mit  $1,2 \times 10^5$  CFU/Keimträger ( $5,3 \times 10^4$  CFU/Keimträger;  $2,3 \times 10^5$  CFU/Keimträger) auf, gefolgt von PVC mit  $2,6 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $7,4 \times 10^3$  CFU/Keimträger;  $2,9 \times 10^4$  CFU/Keimträger) und Fliese mit  $2,1 \times 10^4$  CFU/Keimträger ( $1,1 \times 10^4$  CFU/Keimträger;  $4,3 \times 10^4$  CFU/Keimträger).

Sowohl bei 1 s Bedampfungszeit zeigten alle bedampften Keimträger eine Konzentration von  $2,0 \times 10^0$  CFU/Keimträger ( $2,0 \times 10^0$  CFU/Keimträger;  $4,0 \times 10^0$  CFU/Keimträger) als auch bei 3 s ( $2,0 \times 10^0$  CFU/Keimträger;  $2,0 \times 10^0$  CFU/Keimträger). Bei 1 und 3 s Bedampfungszeit verzeichneten die Keimträger Fliese und PVC die niedrigsten Keimzahlen mit  $2,0 \times 10^0$  CFU/Keimträger (1 s:  $2,0 \times 10^0$  CFU/Fliese;  $4,0 \times 10^0$  CFU/Fliese;  $2,0 \times 10^0$  CFU/PVC;  $2,0 \times 10^0$  CFU/PVC; 3 s: konstant  $2,0 \times 10^0$  CFU/Keimträger). Linoleum hingegen wies bei 1 s eine höhere Konzentration mit  $4,0 \times 10^0$  CFU/Keimträger ( $2,0 \times 10^0$  CFU/Keimträger;  $6,0 \times 10^0$  CFU/Keimträger) auf, erzielte jedoch bei 3 s eine gleich hohe Keimzahl wie Fliese und PVC mit  $2,0 \times 10^0$  CFU/Keimträger ( $2,0 \times 10^0$  CFU/Keimträger;  $3,0 \times 10^0$  CFU/Keimträger) (Abb. 26).

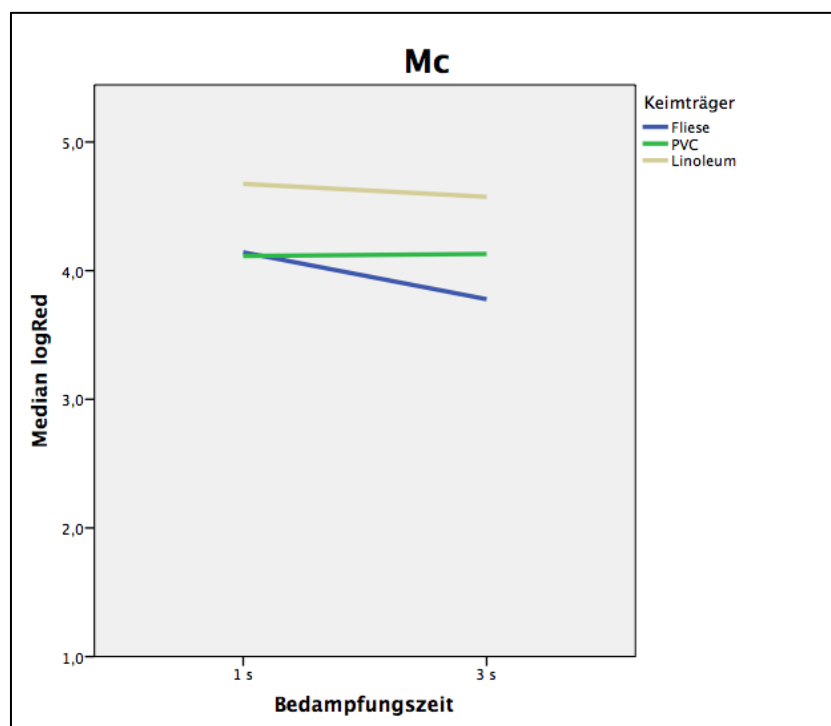


**Abb. 26:** Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s, 3 s) Oberflächen beimpft mit *Mc* Sporen aufgeteilt nach Keimträgern

Bei 1 s Bedampfungszeit waren alle neun untersuchten PVC-Stücke, sieben von neun bedampften Fliesen und vier von neun untersuchten Linoleumstücke kleiner gleich der Nachweisgrenze. Nach einem dreisekündigen Bedampfungsverfahren waren es alle untersuchten Fliesen-, acht von neun PVC-Stücken und sieben von neun Linoleumoberflächen. Somit erhöhte sich die Anzahl von 20 (1 s) auf insgesamt 24 (3 s).

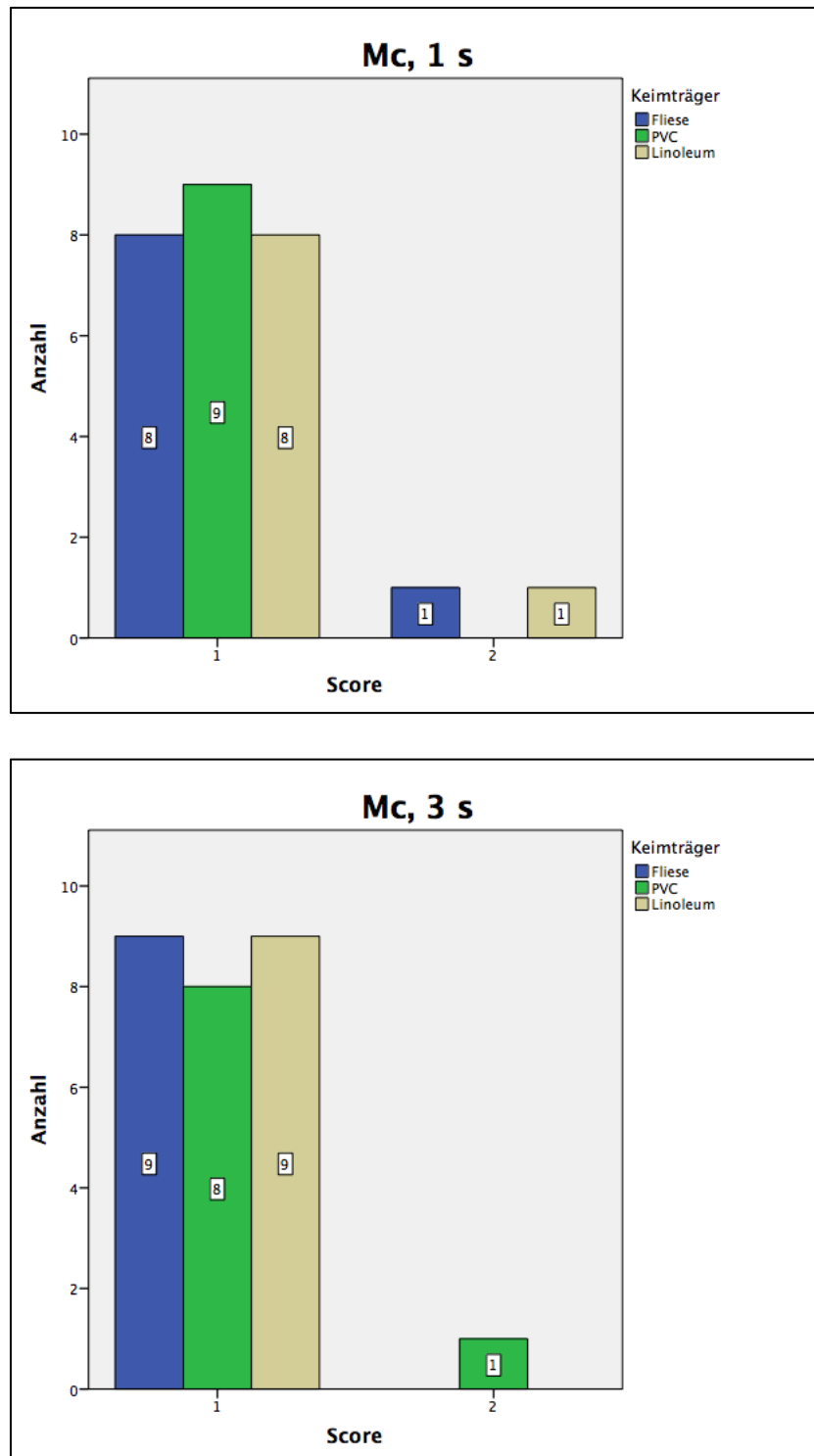
Die Keimzahlreduktion von 0 s Bedampfungszeit zu 1 bzw. 3 s war hoch signifikant, während jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen 1 s und 3 s nachgewiesen werden konnte.

Die Testfläche Linoleum erreichte hier die höchste logarithmische Reduktion um mind. 4,7 (4,1; 4,8) log-Stufen (100 %) bei 1 s, gefolgt von Fliese und PVC mit jeweils mind. 4,1 (Fliese: 3,9; 4,4; PVC: 3,6; 4,2) log-Stufen (99,99 %). Auch bei 3 s Bedampfungszeit erzielte Linoleum die besten Reduktionsergebnisse mit mind. 4,6 (4,5; 4,9) log-Stufen (100 %), gefolgt von PVC mit mind. 4,1 (3,6; 4,2) (99,99 %) und Fliese mit mind. 3,8 (3,7; 4,1) (99,98 %) (Abb. 27).



**Abb. 27:** Logarithmische Darstellung der medianen logarithmischen Reduktion nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern beimpft mit *Mc* Sporen

Die Reduktionsergebnisse eingeteilt nach Scores sind in Abb. 28 dargestellt.



**Abb. 28:** Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Oberflächen beimpf mit *Mc* Sporen nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern (absolute Werte)

Score 1 wurde bei 1 s Bedampfungszeit von allen PVC-Böden erreicht, gefolgt von Fliese und Linoleum (jeweils achtmal). Je eine Fliese und eine

Linoleumoberfläche bekamen Score 2. Nach 3 s Bedampfungszeit erlangten alle Fliesen und Linoleumstücke Score 1. PVC-Oberflächen gelang dies insgesamt achtmal, während ein PVC-Stück Score 2 verzeichnete. Nach 3 s Bedampfung erlangten somit an Stelle von 25 (1 s) insgesamt 26 Oberflächen Score 1. Die Reduktionsergebnisse waren niemals kleiner 99,0 % (Score 3 und 4).

### 3.3 Statistische Anmerkungen

Insgesamt gesehen konnte bei allen durchgeführten Laborversuchsansätzen eine hoch signifikante Reduktion von nicht bedampften zu bedampften (1 bzw. 3 s) Oberflächen verzeichnet werden. Ein hoch signifikanter Unterschied bestand zudem zwischen 1 und 3 s Bedampfungszeit, wobei ein dreisekündiger Bedampfungsvorgang zu einer höheren Keimzahlreduktion führte. Zwischen den einzelnen Keimträgern zeichnete sich bei 1 s Bedampfungszeit kein signifikanter Unterschied ab, während dieser bei 3 s sehr signifikant war. Die Testoberfläche Fliese erreichte hierbei die höchsten Reduktionsergebnisse, gefolgt von PVC und Linoleum. Auch zwischen den unterschiedlichen Keimen bestand ein hoch signifikanter Unterschied, wobei *Mc* Sporen am besten reduziert werden konnten, gefolgt von *Sp* und *Pa*. Bei *Sp* (1 s und 3 s) erreichte die Konzentration McF 4.0 die höchsten Reduktionseffekte, gefolgt von McF 1.0 und über Nacht generiertem Biofilm. Diese Unterschiede waren hoch signifikant. Bei *Pa* war die Reduktion auf den Biofilmoberflächen signifikant höher im Vergleich zu McF 4.0.

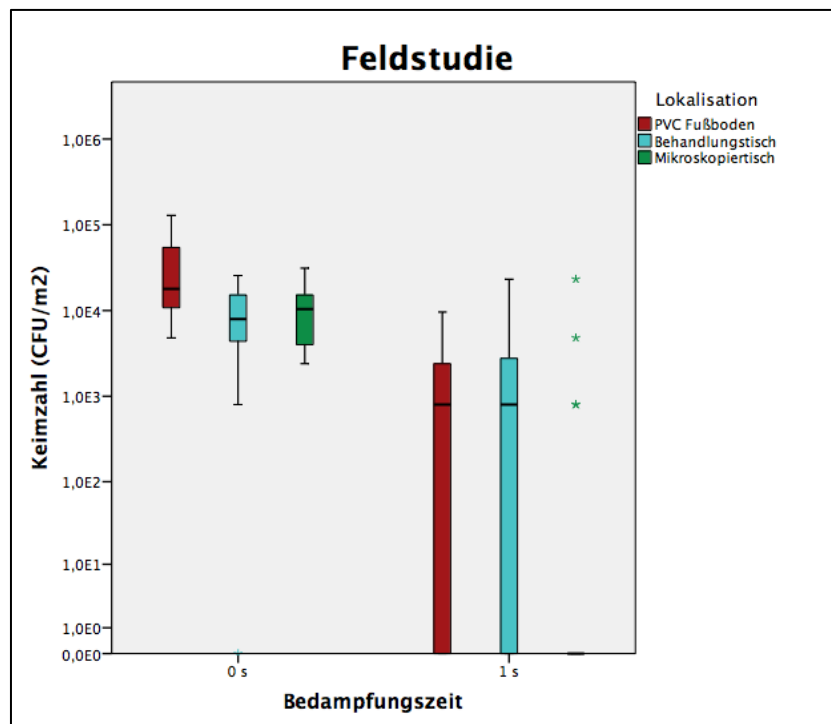
## 4. Ergebnisse der Feldstudie

Unter praxisnahen Bedingungen im Rahmen der Feldstudie war eine Ausgangskeimzahl auf nicht bedampften Lokalisationen von insgesamt  $1,2 \times 10^4$  CFU/m<sup>2</sup> ( $5,8 \times 10^3$  CFU/m<sup>2</sup>;  $2,1 \times 10^4$  CFU/m<sup>2</sup>) zu verzeichnen. Hierbei wies der PVC-Fußboden die höchste Kontaminationsrate mit  $1,8 \times 10^4$  CFU/m<sup>2</sup> ( $1,1 \times 10^4$  CFU/m<sup>2</sup>;  $6,0 \times 10^4$  CFU/m<sup>2</sup>) auf, gefolgt von der Oberfläche des Mikroskopiertisches mit  $1,0 \times 10^4$  CFU/m<sup>2</sup> ( $4,0 \times 10^3$  CFU/m<sup>2</sup>;  $1,6 \times 10^4$  CFU/m<sup>2</sup>) und des Behandlungstisches mit  $8,0 \times 10^3$  CFU/m<sup>2</sup> ( $4,2 \times 10^3$  CFU/m<sup>2</sup>;  $1,6 \times 10^4$  CFU/m<sup>2</sup>). Insgesamt zeigten alle Lokalisationen nach 1 s Bedampfungszeit noch eine Kontamination von  $8,0 \times 10^2$  CFU/m<sup>2</sup> ( $0,0 \times 10^0$  CFU/m<sup>2</sup>;  $1,6 \times 10^3$  CFU/m<sup>2</sup>), was 6,9 % der ohne Bedampfung gemessenen Gesamtkeimzahl entspricht. Der Mikroskopiertisch erreichte mit stets  $0,0 \times 10^0$  CFU/m<sup>2</sup> die niedrigste Keimzahl, während PVC-Fußboden und Behandlungstisch jeweils noch



$8,0 \times 10^2$  CFU/m<sup>2</sup> aufwiesen (PVC-Fußboden:  $0,0 \times 10^0$  CFU/m<sup>2</sup>;  $2,4 \times 10^3$  CFU/m<sup>2</sup>; Behandlungstisch:  $0,0 \times 10^0$  CFU/m<sup>2</sup>;  $3,0 \times 10^3$  CFU/m<sup>2</sup>) (Abb. 29).

Sieben aus 20 Abklatschproben von bedampften PVC-Fußbodenarealen zeigten nach Inkubation kein Keimwachstum mehr, gefolgt von sechs von 20 Behandlungstisch-Objektträgern. Am häufigsten in 16 von 20 Fällen zeigte sich bei der bedampften Oberfläche des Mikrokopiertisches kein Kolonienwachstum mehr. Insgesamt zwei von 60 untersuchten Objektträgern wiesen nach 1 s Bedampfung mehr Kolonien im Vergleich zu ihren nicht bedampften Kontrollen auf (Gummimatte des Behandlungstisches).

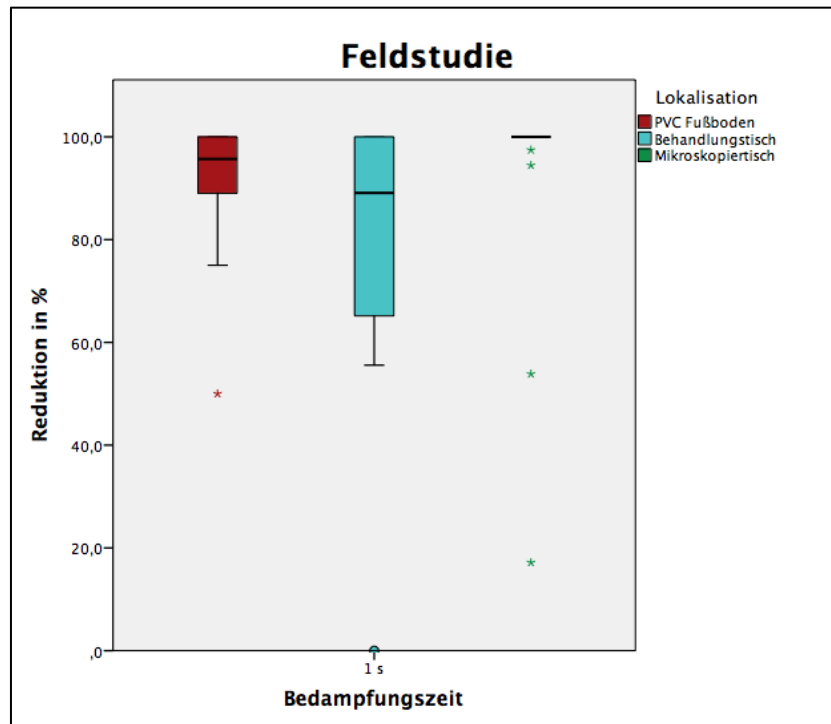


**Abb. 29:** Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s) Contact Slides aufgeteilt nach Lokalisationen

Sowohl insgesamt auf alle Lokalisationen bezogen, als auch für jede einzelne von ihnen, war der Reduktionseffekt ohne Bedampfung zu 1 s Bedampfung signifikant. Die unterschiedlichen Lokalisationen zeigten hierbei deutliche, jedoch nicht signifikante, Unterschiede in Bezug auf die Reduktionseffekte des Dampfreinigungsgerätes.

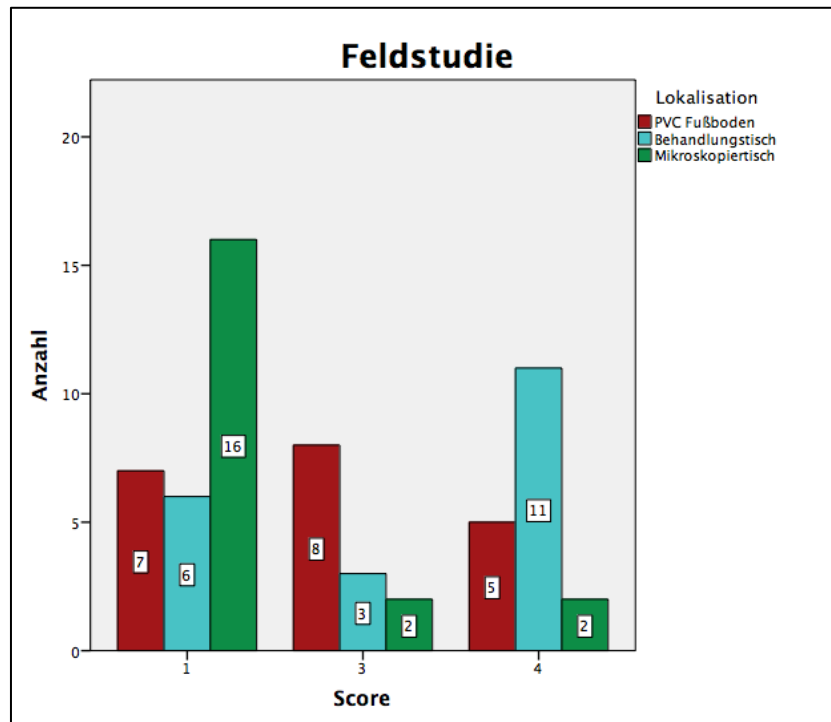
Da in der Feldstudie keine Nachweisgrenzen vorhanden waren und Werte somit auch im Nullbereich liegen konnten wurden in Abb. 30 ausschließlich prozentuale

Reduktionen aufgeführt. Auf dem Mikroskopiertisch wurde die höchste prozentuale Reduktion mit stets 100,0 % erzielt, gefolgt vom PVC-Fußboden mit 95,7 % (87,4 %; 100,0 %; 1,4 log-Stufen) und der Gummimatte des Behandlungstisches mit der niedrigsten prozentualen Reduktionsrate von 89,1 % (64,4 %; 100,00 %; 1,0 log-Stufe).



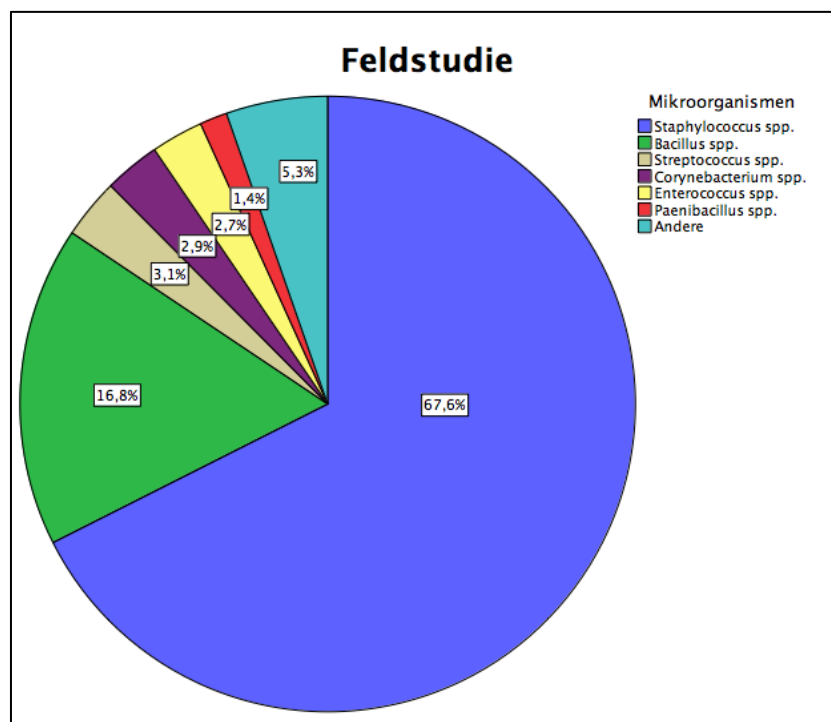
**Abb. 30:** Darstellung der medianen prozentualen Reduktion in % nach 1 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach unterschiedlichen Lokalisationen

Score 1 wurde am häufigsten (16mal) von Objektträgern erreicht, welche vom Mikroskopiertisch stammten, gefolgt von sieben Contact Slides vom Fußboden und sechs vom Behandlungstisch. Der PVC-Fußboden erreichte am häufigsten Score 3 (achtmal), gefolgt von drei Behandlungstisch- und zwei Mikroskopiertischproben. Die Gummimatte des Behandlungstisches hingegen verzeichnete am häufigsten den niedrigsten Score 4 (11-mal), gefolgt vom PVC-Boden (fünfmal) und dem Mikroskopiertisch (zweimal). Die Ergebnisse lagen niemals im Score 2 Bereich ( $99,9\% > \text{Reduktion} \geq 99,0\%$ ) (Abb. 31).



**Abb. 31:** Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Contact Slides nach 1 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach unterschiedlichen Lokalisationen (absolute Werte)

In Abb. 32 sind die im MALDI-TOF MS identifizierten Keimspezies dargestellt.



**Abb. 32:** Prozentuales Vorkommen von Mikroorganismen auf allen untersuchten Oberflächen (PVC-Fußboden, Mikroskopiertisch, Behandlungstisch) ausgewertet mit MALDI-TOF MS

Am häufigsten mit 67,6 % wurden Staphylokokken identifiziert (v. a. *S. aureus*, *S. pseudintermedius*, *S. hominis*, *S. epidermidis*). Ein weiterer großer Anteil mit 16,8 % stellten *Bacillus* spp. dar (v. a. *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. pumilus*). *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp. und *Enterococcus* spp. waren etwa zu gleichen Teilen (2,7 - 3,1 %) vertreten. Darunter dominierten v. a. *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus canis*, *Streptococcus mitis*, *Corynebacterium tuberculo-stearicum*, *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus faecium*. *Paenibacillus* spp. (v. a. *P. barengoltzii*, *P. cineris*) waren mit 1,4 % vertreten. In der Kategorie Andere sind v. a. *Stenotrophomonas* spp., *Micrococcus* spp., *Acinetobacter* spp., *Aspergillus* spp. und *Pseudomonas* spp. eingordnet.

## V. DISKUSSION

### 1. Laborstudie

#### 1.1 Auswahl der Testorganismen und Keimträger

Im laborexperimentellen Studienteil wurden Testorganismen eingesetzt, welche häufige und repräsentative Mikroorganismen aus dem klinischen Alltag der Veterinärmedizin darstellen. Als Indikatororganismen wurden ein grampositives Bakterium (*Staphylococcus pseudintermedius*), ein gramnegatives Bakterium (*Pseudomonas aeruginosa*) und ein Dermatophyt (*Microsporum canis*) ausgewählt. Neben ihrer Bedeutung als nosokomiale Infektionserreger und ihrer klinischen Relevanz orientierte sich die Auswahl an Angaben in der Fachliteratur über das Vorkommen im patientennahen Umfeld und dem Verhalten der Mikroorganismen gegenüber Desinfektionsmaßnahmen bzw. deren Überlebensfähigkeit in der Umwelt.

In der Humanmedizin zählen sowohl *S. aureus* als auch *P. aeruginosa* laut dem „European Centre for Disease Prevention and Control“ (ECDC) zu den zehn häufigsten Erregern nosokomialer Infektionen (LIOFILCHEM, 2012). Während in der Humanmedizin unter den koagulasepositiven Staphylokokken v. a. *S. aureus* als fakultativ pathogener Erreger im Vordergrund steht, sind in der Veterinärmedizin zudem Vertreter der *S. intermedius*-Gruppe, wie etwa *S. pseudintermedius*, klinisch relevant. *S. pseudintermedius* ist als Besiedler der normalen Mikroflora auf Haut und Schleimhäuten von Tieren und als fakultativ pathogener Erreger bekannt (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2013). Multiresistenzproblematiken, Überlebenszeiten von bis zu sieben Monaten auf unbelebten trockenen Oberflächen und die Fähigkeit zur Biofilmformation machen sowohl *S. aureus* als auch *S. pseudintermedius* zu bedeutenden Krankheitserregern (WEESE & VAN DUIJKEREN, 2010). *P. aeruginosa* ist durch seine intrinsische Toleranz gegenüber vielen Detergentien, Desinfektionsmitteln und Antibiotika charakterisiert und stellt daher Mensch und Tier als opportunistischer Krankheitserreger vor eine große Herausforderung (NEELY & MALEY, 2000; O'TOOLE et al., 2000; KRAMER et al., 2006; WEESE & VAN DUIJKEREN, 2010; MOODLEY et al., 2014). Zudem verkomplizieren Biofilmformationen und

Überlebensfähigkeiten bis zu 16 Monaten auf unbelebten trockenen Oberflächen die Eradikationsmöglichkeiten (EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2014). Zu den Pathogenen, welchen vom Infektionskontrollstandpunkt aus im Kleintierveterinärbereich eine besondere Bedeutung zukommt, zählt u. a. der Dermatophyt *Mc* (O'TOOLE et al., 2000; KRAMER et al., 2006). Überlebenszeiten von Sporen und Hyphen bis zu 18 Monaten auf trockenen Oberflächen und dessen zoonotisches Potential heben die Notwendigkeit der Umweltdesinfektion besonders hervor (STULL & WEESE, 2015). Da in der Literatur bestimmte Zusammenhänge zwischen Antibiotika- und Desinfektionsmittelresistenzen zu finden sind, diese sich jedoch auf chemische Desinfektionsverfahren beschränken, wurden Bakterienstämme ohne Antibiotikaresistenzmuster ausgewählt (MILLER et al., 2013; NOLI et al., 2014). Bei *Mc* handelte es sich um ein Feldisolat.

Darüber hinaus orientierte sich das verwendete Keimspektrum an den Richtlinien der „Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft e. V.“ (DVG) zur chemischen Desinfektionsmittelprüfung. Im Bereich tierärztliche Praxis sind als obligatorische Testorganismen der Bakterizidie *S. aureus*, *Enterococcus hirae*, *P. aeruginosa* und *P. vulgaris* aufgeführt bzw. in der Levurozidie und Fungizidie *Candida albicans* und *Aspergillus brasiliensis* (RUTALA et al., 2008). Da *S. pseudintermedius* in der Veterinärmedizin neben *S. aureus* von großer klinischer Bedeutung ist, wurde dieser Keim aus der koagulasepositiven Staphylokokkengruppe ausgewählt, jedoch mit ähnlichen Reaktionseigenschaften wie *S. aureus*. Anstatt von *Candida albicans* und *Aspergillus brasiliensis* fiel die Entscheidung auf *Mc* Sporen. Dies liegt in der Infektionskontrollproblematik und der Bedeutung der Umweltdekontamination zur begleitenden Therapie begründet.

Der Keimträgertest von chemischen Desinfektionsmitteln laut DVG-Richtlinien sieht eine Prüfung auf Edelstahlkeimträgern vor. Diese Studie untersuchte hingegen die keimreduzierenden Eigenschaften eines Dampfreinigungsgerätes im Hinblick auf dessen späteren Einsatzort. Zu diesem Zweck fiel die Auswahl auf Fliese, Polyvinylchlorid (PVC) und Linoleum. Diese Testflächen repräsentieren häufig eingesetzte Bodenbeläge aus der tierärztlichen Praxis und ermöglichen somit Rückschlüsse auf deren unterschiedliche Dekontaminationsmöglichkeiten.

## 1.2 Wahl der Methode

In der Laborstudie wurde eine Methode gemäß den Keimträgertestungen für chemische Desinfektionsmittel entsprechend DVG-Richtlinien ausgewählt (DVG, 2013a). Diese musste jedoch aufgrund des Studiendesigns an bestimmten Stellen abgeändert und an die Verwendung eines Dampfreinigungsgerätes angepasst werden. Hierbei fanden die Verwendung von Belastungssubstanzen, die Herstellung der Testkeimsuspensionen, die Keimzahlbestimmung und die Keimrückgewinnung in Anlehnung an die DVG-Vorgaben statt. Die Methodik der Ausgangskonzentrationseinstellung, der Kontamination der Keimträger und der Keimrückgewinnung wurde zunächst in den durchgeführten Vorversuchen erprobt.

Die Konzentrationseinstellung von *Sp* und *Pa* erfolgte mittels McFarland (McF) Standard. Zu den Nachteilen dieser Methode zählen, dass Konzentrationen nicht exakt eingestellt werden können und auch abgestorbene Keime in die Bestimmung miteinbezogen werden. Jedoch waren die Keimzahlen der Testkeimsuspensionen in den Vorversuchen gut reproduzierbar und nur gering variabel. Zudem erfolgte nach Einstellen des gewünschten McF eine Konzentrationskontrolle mittels Ausplattierung. Insgesamt wurden drei unterschiedliche bakterielle Belastungsgrade (McF 1.0, McF 4.0, Biofilm) in das Studiendesign integriert, um eine mögliche konzentrationsabhängige Komponente des Verfahrens besser evaluieren zu können.

Die Generierung eines bakteriellen Biofilmes wurde an entsprechende Fachliteratur angelehnt und an die verwendeten Testflächen angepasst (DVG, 2013a). Aufgrund der zu Verfügung stehenden Methodik fiel die Entscheidung auf ein statisches Verfahren zur Biofilmherstellung im Gegensatz zum Durchströmungsverfahren. Auf die jeweilige Entwicklung des Biofilmes konnte im Einzelnen kein Einfluss genommen werden. Trotz identischer Versuchsdurchführung waren die Ergebnisse aufgrund der Inkubationsphase und der unterschiedlichen Entwicklung im Vergleich zu den McF-Experimenten weniger standardisierbar und reproduzierbar.

Die Kontamination der Keimträger fand mittels Spatelmethode statt. Nachteile dieser Methode sind die Möglichkeit der ungleichmäßigen Verteilung der Kontaminationsflüssigkeit durch Pfützenbildung, lange Antrocknungszeiten und ein damit verbundenes hohes Kontaminationsrisiko durch Umweltkeime. Jedoch

ist diese Methode im Gegensatz zur Tupfermethode standardisierbarer, realistischer und reproduzierbarer. Da das Kontaminationsrisiko durch Umweltkeime sehr gut unter Kontrolle zu halten war und der erhöhte Zeitaufwand als gerechtfertigt angesehen wurde, war die gewählte Methodik gut geeignet.

Die Keimrückgewinnung erfolgte in Anlehnung an die Richtlinien der DVG durch ein Abriebverfahren im Becherglas auf einem Rundschüttler mit Neutralisationsmedium und Glasperlen. Diese Methode war durch hohe Standardisierbarkeit, Ergebnisreproduzierbarkeit, die Möglichkeit der Erhöhung der Nachweisgrenze durch Zentrifugation der Schüttelflüssigkeiten und die präzise Keimzahlbestimmung durch Anlegen dekadischer Verdünnungsreihen gekennzeichnet. Der hohe Zeit- und Arbeitsaufwand wurde im Vergleich zu anderen Verfahren aufgrund der vielen Vorteile als gerechtfertigt angesehen. Horizontale Abklatschverfahren mittels Abklatschplatten, Dipslides oder Tupfer hingegen haben den Vorteil einer leichten Handhabung und einer Vielzahl an vorliegenden Daten und Erfahrungen aufgrund des weitläufigen Einsatzes. Jedoch stehen diesen Verfahren die Subjektivität des Abklatsch- bzw. Tufervorganges entgegen. Die Ergebnisse von horizontalen Abklatschverfahren sind darüber hinaus quantitativ nicht zuverlässig (v. a. bei hohen Keimbelastungsgraden) und reproduzierbar, und sollten somit als „Tendenz-Analyse“ verwendet werden. Da das hier ausgewählte Abriebverfahren nicht in der Feldstudie eingesetzt werden konnte, musste hier ein Methodenwechsel mit eingeschränkter Vergleichbarkeit erfolgen.

Die Prüfung sah zudem die Mitführung nicht bedampfter Keimträger (Negativkontrollen) als Ausgangswert für angegebene Reduktionseffekte vor. Da die Keimzahlen dieser in den durchgeführten Vorversuchen gut reproduzierbar waren, wurde in jedem Versuchsansatz jeweils ein Kontrollkeimträger mitgeführt.

### **1.3 Methodische Probleme**

In der Versuchsdurchführung ergaben sich unterschiedliche methodische Probleme. Da keine einheitlichen Richtlinien zur Prüfung der keimreduzierenden Wirkung eines Dampfreinigungsgerätes vorlagen, wurde das Studiendesign an die Richtlinien der DVG und an entsprechende Angaben in der Fachliteratur angelehnt. Dabei wurde sehr viel Wert auf die Praxisnähe des Verfahrens gelegt. Methodische Probleme der Laborstudie werden im Folgenden diskutiert.



In der Bakterizidieprüfung von *Sp* und *Pa* wurde entsprechend Vorgaben der DVG ein Abriebverfahren ohne Zentrifugation der Schüttelflüssigkeiten ausgewählt. Das Volumen an Neutralisationsmedium (NaCl) war aufgrund unterschiedlicher Keimträgerhöhen und Becherglastiefen nicht durchwegs einheitlich zu gestalten. Dies wurde in den Ergebnisberechnungen entsprechend berücksichtigt. Jedoch bedingt dies auch unterschiedliche Nachweisgrenzen abhängig der verwendeten Volumina und hat somit bei Ergebnissen im Nachweisgrenzbereich Auswirkungen auf die Reduktionsraten (v. a. McF-Versuche). Diese Auswirkungen können allerdings als minimal betrachtet werden, da sich die verschiedenen Volumina und Nachweisgrenzen nur gering voneinander unterscheiden. In der Diskussion der Ergebnisse wird dies jeweils entsprechend angemerkt. Des Weiteren nehmen nicht nur verwendete Nachweisgrenzen Einfluss auf die Reduktionseffekte, sondern auch Schwankungen in den Ausgangskonzentrationen der täglich neu hergestellten Testkeimsuspensionen. Diese waren jedoch erwünscht und in den drei zeitlich voneinander unabhängigen Wiederholungsversuchen auch so vorgesehen. Obwohl alle Keimträger mit der gleichen Menge an Inokulum beimpft wurden, ergaben sich zudem aufgrund von Keimspezies und Keimträger Unterschiede in den Rückgewinnungsraten. Dies konnte jedoch nicht beeinflusst werden. Jedoch wirkt sich dieser Faktor auch auf die Reduktionsangaben aus und muss entsprechend berücksichtigt werden. Aufgrund unterschiedlicher Rückgewinnungsraten war es nicht möglich, bei allen Keimspezies die gleichen Versuchsansätze durchzuführen. Dies bedingt bei *Pa* nur aussagekräftige Ergebnisse unter bestimmten Versuchsbedingungen (McF 4.0, Bedampfungszeit 1 s) und bei *Mc* Sporen einen Methodenwechsel mit eingeschränkter Vergleichbarkeit zwischen Bakterizidie- und Sporozidieprüfung.

Bei vielen bedampften Keimträgern konnten nach der Rückgewinnung keine Mikroorganismen mehr gefunden werden (v. a. McF-Experimente, *Mc* Versuche). In diesem Fall wurden die jeweiligen Nachweisgrenzen eingesetzt. Dies bedingt, dass Ergebnisse im Nachweisgrenzbereich als Mindestangaben für Reduktionseffekte angesehen werden sollten. Präzisere und aussagekräftigere Reduktionswerte könnten durch ein sensibleres Nachweisverfahren mit niedrigerer Nachweisgrenze erreicht werden. Dies wäre durch eine höhere Ausgangskeimkonzentration, eine Erhöhung der Inokulavolumina, eine

Verringerung des Neutralisationsmediums bzw. eine Zentrifugation der Schüttelflüssigkeit möglich. Jedoch muss hierbei berücksichtigt werden, dass mit einem größeren Volumen an Inokula längere Antrocknungszeiten dieser einhergegangen wären, was wiederum die Wahrscheinlichkeit für bakterielle Vermehrungsprozesse in der Nährlösung erhöht hätte und somit eine schlechtere Reproduzierbarkeit hervorrufen hätte können.

*Mc* Sporen wurden bis dato noch nicht in Keimträgertestungen integriert, daher musste ein geeignetes Verfahren zunächst in den durchgeführten Vorversuchen erprobt werden. Das in der Bakterizidietestung verwendete Abriebverfahren erzielte bei *Mc* Sporen bei nicht bedampften Keimträgern keine ausreichenden Keimrückgewinnungsraten, um Reduktionseffekte sinnvoll darstellen zu können. Daher mussten unterschiedliche Mechanismen zur Erhöhung der Nachweisgrenze in das Verfahren integriert werden. Dies geschah zum einen durch die Erhöhung des Inokulavolumens, eine Volumenreduktion des Neutralisationsmediums und zum anderen durch die Zentrifugation der Schüttelflüssigkeiten. Demzufolge waren die Ergebnisse gut reproduzierbar und präzise. Da in diesem Versuchsansatz das Einstellen unterschiedlicher Konzentrationen im Vorfeld aufgrund schlechter Reproduzierbarkeit abgelehnt wurde, fiel die Entscheidung auf die Prüfung einer einheitlich hohen Sporenkonzentration.

Beachtet werden müssen zudem methodische Probleme in Zusammenhang mit dem eingesetzten Dampfreinigungsgerät. Die Dampftemperatur könnte während längerer Bedampfungsvorgänge sinken. Um dies auszuschließen, wurde das Gerät nur mit maximaler Saug- und Dampfleistung eingesetzt und anschließend wieder vollständig erhitzt. Die Dampftemperatur ist hierbei am Kontaktpunkt hoch, jedoch kann diese abhängig von der Wärmeleitfähigkeit der Oberfläche und der Bedampfungsdistanz enorm abnehmen. Dies könnte Auswirkungen auf den Reduktionserfolg haben und Formulierungen über Relationen zwischen Dampfeinwirkungszeit, Keimspezies, Distanz und Oberfläche sind somit von Nöten. Eine mögliche Keimverwirbelung kann nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Jedoch minimieren vorab definierte Bedampfungsabstände, das Verwenden von OP-Folie und die maximale Saugkraft des Gerätes diese Gefahr. Überprüfungsmechanismen einer möglichen aerogenen Kontamination wurden in dieser Studie aufgrund des technischen Aufwands nicht integriert.

Darüber hinaus sind andere Faktoren als Problemquellen zu berücksichtigen,

jedoch wird ihr Einfluss als eher gering eingeschätzt. So können Ungenauigkeiten in der Herstellung der Testkeimsuspensionen oder beim Anlegen dekadischer Verdünnungsreihen niemals vollständig ausgeschlossen werden. Um diese Faktoren zu minimieren, fand die Ausplattierung der Testkeimsuspensionen und Schüttelflüssigkeiten durchwegs im Doppelansatz mit anschließender Mittelwertbildung statt. Die Kontamination der Flächen und der Bedampfungsvorgang wurden möglichst standardisiert von immer derselben Person durchgeführt, jedoch können leicht ungleichmäßige Verteilungen der Keime auf den Oberflächen und geringe Schwankungen im Bedampfungswinkel bzw. der Bedampfungszeit nicht gänzlich ausgeschlossen werden. Durch die Verwendung einer Stoppuhr wurde die Bedampfungszeit möglichst einheitlich gestaltet. Zum anderen konnte eine Kontamination durch Umweltkeime in den Versuchsdurchläufen nicht vollständig ausgeschlossen werden, da diese nicht unter sterilen Bedingungen stattfanden. Allerdings konnte dieses Risiko durch eine sorgfältige Versuchsplanung und eine sterile Vorbereitung möglichst aller verwendeten Utensilien maßgeblich reduziert werden. Ein Verfahren unter absolut sterilen Kautelen wurde für diese Studie als nicht gerechtfertigt angesehen, da die Zielsetzung war, die Methode unter praxisnahen Bedingungen zu testen. Darüber hinaus konnte das Wachstum von Kontaminationskeimen aufgrund derer Morphologie sehr gut von den Indikatororganismen differenziert werden. Desinfektionsmittelrückstände waren möglich, jedoch wurde soweit wie möglich Ethanol zu Desinfektionszwecken eingesetzt, welcher nach Trocknung rückstandsfrei verdunstet. Desinfektionsmittelrückstände des eingesetzten Flächendesinfektionsmittels Safe Sept (Henry Schein®) auf Basis von Alkoholen und quartären Ammoniumverbindungen konnten nicht vollständig ausgeschlossen werden. Da jedoch die Keimträger der Bakterizidieprüfung nicht damit behandelt wurden, ist eine Wirkung hier ausgeschlossen. In der Sporozidieprüfung wurden die Testflächen nach Versuchsende nicht mit Ethanol, sondern mit dem kommerziellen Desinfektionsmittel erfolgreich sporozid desinfiziert. Rückstände und deren mögliche Auswirkungen müssten jedoch sowohl auf bedampften als auch auf nicht bedampften Keimträgern spürbar sein und somit die Ergebnisbewertung nicht beeinflussen.

#### **1.4 Diskussion der Ergebnisse**

Die Datenanalyse der Ergebnisse fand mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson in

„IBM SPSS Statistics“ statt. Hierbei wurde ein Rangvergleichsverfahren mit den vorab definierten Scores durchgeführt. Beachtet werden muss, dass häufig lediglich Nachweisgrenzen bei Ergebnissen im Nachweisgrenzbereich und keine absoluten Zahlen vorlagen. Die Reduktionseffekte wurden mit Hilfe von nicht bedampften Negativkontrollen errechnet.

In den Vorversuchen wurde festgestellt, dass der Versuchsaufbau und die Bestimmungsmethodik für die Untersuchung der keimreduzierenden Wirkung des Dampfreinigungsgerätes geeignet waren. Die ermittelte Keimrückgewinnungsrate nicht bedampfter Keimträger lag zum Teil über der Zahl an inokulierten Mikroorganismen. Dies kann darin begründet liegen, dass es durch die Spatelmethode zu einem Suspensionseffekt der Bakterien kam bzw. dass lange Antrocknungszeiten und zum Teil auch Inkubationszeiten der bereits kontaminierten Keimträger zu einer Keimvermehrung führten.

Vergleichende Reduktionseffekte zwischen bakteriologischen und mykologischen Experimenten sind nur bedingt formulierbar, da es bei *Mc* Sporen zu einem Methodenwechsel kam. Statistisch gesehen erzielte die Dampfreinigung in allen durchgeführten Versuchsansätzen eine hoch signifikante Reduktion. *Mc* Sporen erreichten hierbei die höchsten Reduktionsraten um insgesamt 4,1 log-Stufen (3,8; 4,5) nach 1 und 3 s Bedampfungszeit. In Prozent entspricht dies einer Reduktion um 99,99 % (99,98 %; 100 %). Die DVG-Vorgaben zur Fungizidieprüfung fordern eine konstante Reduktion um mindestens 3 log-Stufen in jedem einzelnen Keimträgertest. Dies wurde jedoch in drei von 54 Fällen nicht erreicht. Jedoch muss hierbei berücksichtigt werden, dass die DVG keine Prüfung von *Mc* Sporen vorsieht bzw. auch angepasste und veränderte Prüfbedingungen in dieser Studie zum Tragen kamen. Die erzielte log-Reduktion ist zum Teil bei 3 s niedriger als bei 1 s Bedampfungszeit, jedoch ist dieser Unterschied nicht signifikant.

*Sp* erreichte nach *Mc* die zweitbesten Reduktionsergebnisse, jedoch mit veränderten Prüfbedingungen. Die Nachweisgrenze lag bei *Sp* bzw. *Pa* um das 75-fache bzw. 100-fache höher im Vergleich zu *Mc*. Innerhalb der *Sp* Gruppe waren die Ergebnisse der verschiedenen Ansätze hoch signifikant unterschiedlich. Die McF 4.0 Experimente erzielten die besten Reduktionsraten, gefolgt von McF 1.0 und den Experimenten mit über Nacht generiertem Biofilm. Dies beweist, dass das Dampfreinigungsgerät auch höhere bakterielle Keimbelastungen effektiv reduzieren kann, jedoch Biofilmformationen schwieriger zu eliminieren

sind. Insgesamt lag die Reduktion nach 1 und 3 s bei McF 4.0 bei 4,1 log-Stufen (3,5; 4,4), bei McF 1.0 bei mind. 3,1 log-Stufen (2,9; 3,4) und bei Biofilmen bei 2,5 log Stufen (1,6; 3,1). In Prozent entspricht dies einer Reduktion um 99,99 % (99,97 %; 100 %) der Keime bei McF 4.0, mind. 99,92 % (99,86 %; 99,96 %) bei McF 1.0 und 99,66 % (97,47 %; 99,92 %) bei Biofilmen. Die DVG-Vorgaben fordern eine Reduktion um mindestens 4 log-Stufen in jedem Keimträgertest. Jedoch müssen auch hier die entsprechend angepassten und veränderten Prüfbedingungen berücksichtigt werden. Aufgrund der niedrigen Ausgangskonzentrationen und hohen Nachweisgrenzen war es häufig nicht möglich, Reduktionen um 4 log-Stufen zu erreichen. Bei McF 1.0 waren jedoch durchwegs und bei McF 4.0 in vier von sechs Ergebnisreihen die Keimzahlen nach Bedampfung so niedrig, dass Nachweisgrenzen anstatt von absoluten Zahlen verwendet wurden, was wiederum eine Formulierung von Mindestreduktionen bedingt. Während bei McF 1.0 und Biofilmen 3 s Bedampfungszeit eine signifikante Verbesserung im Vergleich zu 1 s erreichte, war bei Mc 4.0 kein signifikanter Unterschied in den unterschiedlichen Bedampfungszeiten zu verzeichnen. Somit sind auch die zum Teil geringeren log-Reduktionsraten bei McF 4.0 bei 3 s im Vergleich zu 1 s als nicht signifikant zu betrachten.

*Pa* erzielte die niedrigsten Reduktionsraten. Auch hier treffen die bereits bei *Sp* erwähnten Unterschiede in Bezug auf die Versuchsdurchführung im Vergleich zu *Mc* zu. In den unterschiedlichen *Pa*-Ansätzen waren die Ergebnisse signifikant unterschiedlich. Statistisch gesehen erreichten die Biofilmexperimente höhere Reduktionsraten als die McF 4.0 Versuche. Biofilme zeigten insgesamt nach 1 und 3 s Bedampfung eine Reduktion um 2,4 (1,8; 4,2) log Stufen und bei McF 4.0 um mind. 2,1 log Stufen (1,4; 2,3). In Prozent entspricht dies 99,60 % (98,35 %; 99,99 %) bei Biofilmen und mind. 99,17 % (96,00 %; 99,53 %) bei McF 4.0. Berücksichtigt werden muss, dass die Biofilmexperimente mit zwei unterschiedlichen Bedampfungszeiten durchgeführt wurden, während hingegen die McF-Experimente nur mit McF 4.0 und einer einsekündigen Bedampfung stattfanden. In den Biofilmexperimenten bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Einwirkzeiten. Dies erscheint erstaunlich, da Biofilme eigentlich schwieriger zu eliminieren sind. Zudem wurden in den McF-Versuchen in 99 % der Fälle keine Keime mehr von bedampften Keimträgern rückgewonnen. Bedingt sind die vergleichsweise eher niedrigen Reduktionswerte durch die

geringen Ausgangskeimzahlen der Negativkontrollen und die hohen Nachweisgrenzen im Verfahren. Auch wenn nach dem Bedampfungsvorgang in 99 % der Proben keine Erreger mehr nachweisbar waren, konnte aufgrund der genannten Faktoren eine Reduktion um maximal 2,8 log-Stufen erreicht werden. In den meisten Keimträgertestungen mussten somit Nachweisgrenzen statt absoluten Zahlen eingesetzt werden, was eine Formulierung von Mindestreduktionen bedingt. In der Biofilmversuchsreihe kam es in einem von 53 untersuchten Fällen dazu, dass bei einer bedampften Oberfläche geringfügig mehr Keime rückgewonnen werden konnten als beim jeweiligen Kontrollkeimträger. Dies kann als Ausreißer eingestuft werden bzw. dadurch erklärt werden, dass eine Standardisierung von über Nacht generierten Biofilmen schwierig war.

Die Keimrückgewinnungsraten variierten stark zwischen den unterschiedlichen Keimspezies. Trotz ähnlicher Ausgangskeimzahlen der auf McF 4.0 eingestellten Testkeimsuspensionen, war die Keimrückgewinnungsrate bei *Pa* im Vergleich zu *Sp* sehr viel geringer. Dies wurde bereits auch in anderen Studien für gramnegative Bakterien im Vergleich zu grampositiven Keimen bestätigt (KWASNY & OPPERMAN, 2010; O'TOOLE, 2011). Eine mögliche Erklärung ist, dass *Pa* auf die Antrocknungsphase bzw. das Abriebverfahren sensibler reagierte und die Absterberate dadurch viel höher lag. *Mc* Sporen zeigten die niedrigste Keimrückgewinnungsrate. Dies mag verwunderlich klingen, da Pilzsporen als sehr resistent gegenüber Umwelteinflüssen gelten und über mehrere Jahre infektiös bleiben können. Die erhöhte Absterberate liegt daher im angewendeten Verfahren, am wahrscheinlichsten der Abriebmethode im Becherglas, begründet.

In der Laborstudie bestand zwischen den beiden Bedampfungszeiten 1 und 3 s ein hoch signifikanter Unterschied, wobei eine dreisekündige Bedampfung bessere Resultate erzielen konnte. Neben den verschiedenen Bedampfungszeiten wurden zudem unterschiedliche Bodenbeläge geprüft. Nach 1 s Bedampfungszeit bestand kein signifikanter Unterschied in den Reduktionserfolgen zwischen den verschiedenen Testflächen, jedoch war dieser bei 3 s sehr signifikant. Fliesen sind hierbei am besten durch Dampf zu reinigen, gefolgt von PVC und Linoleum. Fliesen sind durch eine hohe Widerstandskraft und Beständigkeit gekennzeichnet. Ihre Oberflächen sind glatt, robust gegen äußere Einflüsse und leicht zu reinigen bzw. zu desinfizieren. Diese Faktoren tragen dazu bei, dass die Dampfreinigung

auf dieser Oberfläche sehr erfolgreich war. Dicht dahinter folgt die PVC-Oberfläche, welche auch häufig in medizinischen Einrichtungen eingesetzt werden. Dies zeigen ähnliche Materialvorteile wie Fliesen, was eine erfolgreiche Dekontamination vereinfacht. Die geringste keimreduzierende Wirkung erreichte das Dampfreinigungsgerät auf dem Keimträger Linoleum. Dieser Bodenbelag ist zwar abriebfest und pflegeleicht, jedoch nicht derartig oberflächenversiegelt, verschleißfest und robust gegenüber äußeren Einflüssen, wie Wasserdampf oder anderen Desinfektionsmaßnahmen. Die eher poröseren Oberflächenstrukturen erschweren die Loslösung von Mikroorganismen durch Dampfreinigung.

Darüber hinaus variierten die Keimträger bezüglich Keimrückgewinnungsrate von nicht bedampften Kontrollen und Antrocknungsdauer. Insgesamt gesehen konnten beim Keimträger Fliese am meisten Keime rückgewonnen werden, gefolgt von Linoleum und PVC. Aufgeschlüsselt nach den verschiedenen Keimen ist dies bei *Sp* der Fall, während bei *Pa* und *Mc* hingegen am meisten Keime bei Linoleum rückgewonnen wurden, gefolgt von Fliese und PVC bei *Pa* bzw. von PVC und Fliese bei *Mc*. Die Probenanzahl ist jedoch zu gering, um statistische Folgerungen zu ziehen. Auch die Antrocknungszeiten der Inokula waren keimträgerspezifisch unterschiedlich. Insgesamt trockneten die Inokula auf dem Keimträger Linoleum am schnellsten, gefolgt von Fliese und PVC. Dies kann durch die Oberflächenstruktur der verschiedenen Keimträger erklärt werden. Die raschere Trocknung bei Linoleum kann durch eine eher porösere und feuchtigkeitsresorbierende Oberfläche im Vergleich zu Fliese und PVC bedingt sein. Fliese und PVC hingegen weisen beide sehr robuste und geschlossene Oberflächen auf, die das Eintreten von Flüssigkeiten verhindern und eine gute Wärmeleitfähigkeit aufweisen.

Im Folgenden sollen vergleichbare Studie aus der Fachliteratur diskutiert werden.

Die Studie von (SCHULZE, 2000; TANNER, 2009) untersuchte die mikrobiozide und parasitizide Wirkung eines Dampferzeugers mit vorgespannten Tuch. Auch hier wurde das Verfahren an die DVG-Richtlinien für chemische Desinfektionsmittel angelehnt und untersuchte im Keimträgertest auf unterschiedlichen Keimträgern (Holz, Fliese und Teppich) die keimreduzierende Wirkung auf verschiedenen Mikroorganismen (*S. aureus*, *Pa*, *Candida albicans*, ECBO- und Reo-Virus, und Spulwurmeier). Bei einem Bedampfungsabstand von 2,5 cm und einer Bedampfungszeit von 5 s erreichten alle Erreger auf allen

Keimträgern eine Reduktion um mind. 5 log-Stufen. Auch hier hatte eine längere Bedampfungsdauer (5 s) höhere Reduktionsraten im Vergleich zu 2 s zur Folge. Die Keimrückgewinnung war auf dem Keimträger Fliese am höchsten.

HAAS et al. (1998) untersuchte die keimreduzierende Wirkung des Dampfreinigungsgerätes VaporJet 2400 mit Hilfe von unterschiedlichen Bakterien (*E. coli*, *Shigella flexneri*, VRE, MRSA, *Salmonella enterica*, *Pa*, MSSA), Pilzen (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*) und Endosporen von *C. difficile* auf Tonkeimträgern. Hierbei kamen vier unterschiedliche Bedampfungszeiten zum Einsatz, wobei ein deutlicher positiver Zusammenhang zwischen längeren Bedampfungszeiten und höheren Keimreduktionen zu verzeichnen war. Nach 5 s bzw. bei *Pa* bereits nach 2 s Bedampfungszeit wurde bei allen untersuchten Keimen eine Reduktionsrate von 100 % erzielt.

Ähnlich hohe bakterizide Reduktionseffekte um insgesamt 5 log-Stufen (100 %) eines grampositiven und eines gramnegativen Bakteriums auf Edelstahl- oder Aluminiumoberflächen beschrieb TANNER (2009) in seiner Studie, in der er darüber hinaus feststellte, dass vorgespannte Tücher an den Dampfaustrittsdüsen, unabhängig ihres Materials und ihrer vorausgehenden Reinigungsbehandlung, den Desinfektionserfolg nicht beeinflussen.

DEMATTEO et al. (2014) hingegen untersuchte die keimreduzierende Wirkung eines Dampfreinigungsgerätes ausgestattet mit einer thermo-beschleunigten nanokristallinen Reinigung auf Biofilmen. Zu den Testorganismen zählten neben *E. coli* und *A. baumannii*, auch *Pa* und *S. aureus*. In dieser Studie wurden die Biofilme in einer Durchströmungskammer auf unterschiedlichen Oberflächen erzeugt, wobei Keramikoberflächen bei *E. coli* Biofilmen die höchsten Reduktionsraten erreichten, gefolgt von Edelstahl, Polykarbonat und Gummi. Auch in dieser Studie war eine deutliche positive Korrelation zwischen Bedampfungsdauer und Keimreduktion erkennbar. Bereits nach 3 s Bedampfungszeit wurde bei allen Keimen eine Reduktion von über 99,95 % (3 log-Stufen) und bei 5 s eine Reduktion von über 99,99 % (4 log-Stufen) erreicht. Bei *E. coli* wurde zudem vergleichend eine Desinfektion mit 5 % Natriumhypochlorit durchgeführt. Nach 10 min Einwirkdauer wurde hier eine 1.8 log-Reduktion erreicht. Diese konnte durch längere Einwirkzeiten nicht erhöht werden. Im Vergleich dazu, erreichte das Dampfreinigungsgerät bereits nach 1 s



Bedampfungszeit ähnliche Reduktionsergebnisse.

Eine weitere Studie von SONG et al. (2012) bewies darüber hinaus, dass Dampfreinigung Hausstaubmilben und deren denaturierte Allergene unter standardisierten Laborbedingungen effektiv auf Teppichböden abtöten bzw. entfernen kann. Dabei erreichte die Dampfreinigung im Vergleich zu Staubsaugen ohne Dampf, Neemöl und Benzalkoniumchlorid die höchste Reduktionsrate (98,4 %).

## **2. Feldstudie**

### **2.1 Auswahl der Lokalisationen**

Die in der Feldstudie ausgewählten Lokalisationen sollten zum einen den Einsatzort des Dampfreinigungsgerätes aus der Laborstudie wieder aufnehmen und zum anderen horizontale „high touch“ Flächen mit hohem Kontaminations- und Transmissionsrisiko darstellen. Der PVC-Fußboden, die Gummimatte des Behandlungstisches und die Tischplatte des Mikroskopiertisches wurden hierfür als repräsentative Indikatorflächen in dem dermatologischen Untersuchungsraum einer Tierklinik ausgewählt. Die Kontamination der patientennahen Flächen konnte hierbei direkt über den Patienten selbst oder indirekt über die Hände des Personals bzw. aerogen erfolgen. Auch wenn die Erregerkontamination im Vergleich zu „low touch“ Flächen als annähernd identisch getestet wurde, ist die Transmissionswahrscheinlichkeit durch den häufigen Kontakt und somit auch die klinische Relevanz höher ONG et al. (2014). Zudem spielte die Praxisnähe eine große Rolle in der Auswahl der Flächen, da jede dieser auch später für die Dampfreinigung geeignet wäre und sie vergleichbar in anderen tierärztlichen Einrichtungen anzutreffen sind. Sowohl die Reinigungs- als auch die Desinfektionsarbeiten des Personals im klinischen Alltag fanden unabhängig von der Studiendurchführung statt.

### **2.2 Wahl der Methode**

Wie bereits erwähnt, kam in der Feldstudie eine Abklatschmethode mittels Contact Slides zur Bestimmung der Oberflächenkeimzahl zum Einsatz. Auch wenn dieses Verfahren nicht in dem Maße reproduzierbar, standardisierbar und objektiv durchführbar war wie das Abriebverfahren der Laborstudie, war es jedoch für die Zielsetzung dieses Studienteils sehr gut geeignet. Unter

praxisnahen Bedingungen war die Abklatschuntersuchung durch die Subjektivität des Vorganges nur eingeschränkt standardisierbar, jedoch wurde versucht dies durch die einheitliche Probennahme durch eine Person, eine möglichst gleiche Andruckdauer unter Stoppuhrkontrolle und Andruckstärke soweit wie möglich zu kompensieren. Die leichte Durchführung und Handhabung, der weitläufige Einsatz, die standardisierte Entnahmefläche und die fehlende Nachweisgrenze zählen zu den Vorteilen dieses horizontalen Abklatschverfahrens. Ein Tupfer-Verfahren wurde aufgrund schlechterer Standardisierbarkeit bei der Probennahme (Druck, Anstellwinkel, Tupferqualität, fehlende standardisierte Entnahmefläche) im Vergleich zu Contact Slides abgelehnt. Da ein Abriebverfahren in der Feldstudie nicht anwendbar war, musste hier ein Methodenwechsel erfolgen, welcher eine eingeschränkte Vergleichbarkeit der unterschiedlichen Studienteile (Labor- versus Feldstudie) mit sich bringt.

Zur Identifizierung der Keimspezies wurde das massenspektrometrische Verfahren MALDI-TOF MS (Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry) eingesetzt. Im Gegensatz zu klassischen mikrobiologischen Differenzierungsverfahren hebt sich diese Methode durch sehr kurze Analysezeiten, einfache Bedienung bzw. Automatisierbarkeit, und hohe Empfindlichkeit und Präzision hervor. Zudem ist das Verfahren nicht so anfällig gegen veränderte Stoffwechseleigenschaften der Mikroorganismen wie klassische Differenzierungsverfahren. Zu den Nachteilen des MALDI-TOF MS zählen die mögliche Beeinträchtigung durch Fremdproteine, die fehlende Prüfung von Resistenzmustern gegen Antiinfektiva und die Abhängigkeit von Protein-Referenzspektren des jeweiligen Gerätes. Die Bestimmung von Antibiotikaresistenzmustern war in dieser Studie nicht vorgesehen, da keine Einflüsse dieser auf die keimreduzierenden Eigenschaften von Dampfreinigung bekannt sind. Die im Gerät eingespeisten Protein-Referenzspektren reichten weit über die vom Hersteller bereitgestellten Daten hinaus und lieferten somit aussagekräftige und präzise Identifizierungen.

### **2.3 Methodische Probleme**

In der Versuchsdurchführung der Feldstudie ergaben sich folgende methodische Problematiken.

Neben der bereits erwähnten Subjektivität der Abklatschuntersuchung, lag eine

hohe Varianzspanne zwischen den einzelnen Stichproben vor. Diese Varianz wurde durch ein Kontaminationsungleichgewicht der beprobten Stellen an den unterschiedlichen Lokalisationen bedingt, da bestimmte Stellen viel höhere Keimbelastungsgrade aufweisen konnten als andere (z. B. infolge von Körperflüssigkeiten oder Speichelflecken). Diese Ungleichheit war jedoch nicht beeinflussbar. Durch die tägliche Probennahme an ähnlichen benachbarten Stellen und die Erhöhung des Probenumfanges auf Wiederholungsansätze an insgesamt zehn Tagen in Doppelansätzen wurde versucht, dies zu kompensieren. Zudem erschwerte diese Variabilität die Vergleichbarkeit von Reduktionsraten von nicht bedampften zu bedampften Stellen, da die nicht bedampften Kontrollen nicht die direkten Ausgangskeimzahlen widerspiegeln. Hohe Keimbelastungsgrade können bei horizontalen Abklatschuntersuchungen darüber hinaus nicht präzise in der Ergebnisbeurteilung bestimmt werden. Dies war jedoch bei dem vorgefundenen Kontaminationsvolumen keine Einschränkung. Sowohl die Abklatschuntersuchung selbst als auch die Inkubation der Contact Slides und die Ergebnisinterpretation wurden strikt nach Herstellerangaben (Liofilchem®) und somit nach der zugrundeliegenden DIN-Norm (DIN ISO 18593:2004, „Deutsches Institut für Normung e. V.“, Berlin, Deutschland) durchgeführt. Da die Ergebnisse nur eingeschränkt quantitativ zuverlässig und reproduzierbar waren, sollten diese als „Tendenz-Analyse“ von Zufallstichproben mit kleinen Entnahmeflächen eingestuft werden. Bei der Ergebnisinterpretation muss zudem beachtet werden, dass die Auswertung der ursprünglich ausgezählten Keime (CFU) auf eine um ein Vielfaches größere Fläche umgerechnet wurde (von 12,0 cm<sup>2</sup> auf 1,0 m<sup>2</sup>). Dies bedingt eine bessere Anschaulichkeit der Ergebnisse, jedoch impliziert dies auch eine nur scheinbare höhere statistische Aussagekraft.

Auch die anschließende Untersuchung mittels MALDI-TOF MS birgt methodische Probleme. Es wurden nur repräsentative Keime einer morphologisch identisch aussehenden Keimgruppe ausgewählt, jedoch ist hierbei nicht gesichert, dass es sich bei den eingeteilten Gruppen um wirklich ein- und dieselbe Keimspezies handelte. Eine Keimspezifizierung jeder einzelnen Kolonie schien dabei nicht zweckmäßig, da diese Untersuchung lediglich als Zusatzinformation über keimspezifische Tendenzen in der Keimreduzierung diente. Diese Untersuchung hatte keinerlei Einfluss auf die gemachten Reduktionseffekte durch das Dampfreinigungsgerät. Darüber hinaus ist eine Überwucherung von Keimen

bei der Inkubation aufgrund fehlender Verdünnungsansätze und einer kleinen Entnahmefläche möglich. Dies wurde allerdings durch eine zweimalige Ablesung und Auswertung der Ergebnisse soweit wie möglich vermieden.

Die methodischen Probleme des Dampfreinigungsgerätes entsprechen den in der Laborstudie bereits aufgeführten Punkten (Punkt V 1.3.). Darüber hinaus könnten Desinfektionsmittelrückstände die Ergebnisauswertung beeinflussen. Jedoch enthielten die verwendeten Contact Slides in ihrer Zusammensetzung ein Neutralisationsmedium zur Inaktivierung von Desinfektionsmitteln nach entsprechender Norm (DIN EN ISO 4833, „Deutsches Institut für Normung e. V.“, Berlin, Deutschland).

## **2.4 Diskussion der Ergebnisse**

Auch in der Feldstudie fand die Datenanalyse mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson mit einem Rangvergleichsverfahren der vorab definierten Kategorien (Scores) in „IBM SPSS Statistics“ statt. Da in diesem Studienteil keine Nachweisgrenzen vorhanden waren, handelt es sich bei den hier aufgeführten Werten ausschließlich um absolute Zahlen, welche zum Zwecke einer besseren Anschaulichkeit auf 1 m<sup>2</sup> hochgerechnet wurden. In der Feldstudie wurden Reduktionseffekte mit Hilfe von nicht bedampften benachbarten Kontrollstellen beschrieben. Eine exakte Bestimmung des Ausgangskeimgehaltes der bedampften Stelle war jedoch nicht möglich.

Bei allen drei untersuchten Lokalisationen (Fußboden, Behandlungs- und Mikroskopiertisch) kam es zu einer signifikanten Reduktion von nicht bedampften im Vergleich zu einsekündig bedampften Contact Slides. Hierbei weist das Effektmaß (Cramer V) mit 0,4 auf einen großen Einfluss der Lokalisationsstelle auf die Reduktionseffektivität hin, jedoch war der Probenumfang zu gering, um signifikante Unterschiede feststellen zu können. Die Arbeitsplatte des Mikroskopiertisches zeigte die höchste Reduktionsrate um 100 %, gefolgt von dem PVC-Fußboden um 95,69 % (90,66 %; 100%) und der Gummimatte des Behandlungstisches um 89,09 % (65,91 %; 100 %). Dies kann dadurch erklärt werden, dass die Arbeitsplatte des Mikroskopiertisches aus einer Oberfläche mit extrem robusten Schichtstoffen bestand, die stoß-, abrieb- und kratzfest war. Dadurch war eine Ablösung des Schmutzes und der darin befindlichen Mikroorganismen durch Dampfreinigung sehr gut möglich. Auch der

PVC-Fußboden wird als stark beanspruchbar, leicht dekontaminierbar und durch eine spezielle Oberflächenvergütung als sehr beständig gekennzeichnet. Dies erklärt eine gute Anwendungsmöglichkeit auf dieser Oberfläche entsprechend den Erfahrungen aus der Laborstudie, jedoch schien die angewandte Bedampfungszeit nicht ausreichend für eine effektive Dekontamination zu sein. Die Gummimatte des Behandlungstisches konnte durch die Dampfreinigung trotz der niedrigsten Ausgangskeimzahl nur auf das Niveau entsprechend des PVC-Fußbodens dekontaminiert werden. Dies wurde bereits auch in einer anderen Studie beschrieben und könnte für eine schlechte Wärmeleitfähigkeit des Gewebes bzw. für eine für Mikroorganismen günstige Anhaftungsfläche sprechen (HUSLAGE et al., 2010).

Das Ausgangskeimniveau war am Fußboden am höchsten, gefolgt von Mikroskopiertisch und Behandlungstisch. Beim PVC-Boden direkt im Eingangsbereich waren hohe Keimbelastungsgrade zu erwarten, da sich in diesem Bereich häufig Patienten aufhielten und somit das Kontaminationsrisiko erhöhten. Auch der Mikroskopiertisch wies einen hohen Kontaminationsgrad auf, was vermutlich v. a. in einer indirekten Kontamination über das Personal begründet liegt. Am geringsten war die Kontamination auf dem Behandlungstisch. Dennoch ist dies kritisch zu beurteilen, da nach jedem Patienten routinemäßig eine chemische Sprühdesinfektion erfolgte und somit gefundene Keimbelastungsrückstände auf eine mangelnde, falsch durchgeführte oder inadäquate Desinfektion schließen lassen.

Auch in der Feldstudie sind die Reduktionsergebnisse abhängig vom Ausgangskeimniveau. Wie bereits in Punkt V 2.3 erwähnt, ist die Feldstudie als „Tendenz-Analyse“ zu verstehen, da es sich um zufällig ausgewählte Stichproben handelt. Die damit einhergehende hohe Variabilität bedingt vermutlich auch die an zwei bedampften Stellen (Behandlungstisch) höheren Keimbelastungsgrade im Vergleich zu deren Negativkontrollen.

Die mittels MALDI-TOF MS identifizierten Mikroorganismen stellten Kommensalen dar, welche auf der Haut und den Schleimhäuten von Mensch und Tier natürlich vorkommen. Die größte Gruppe stellte dabei *Staphylococcus* spp., gefolgt von *Bacillus* spp. und *Streptococcus* spp. dar. Nach der Dampfreinigung waren v. a. noch *Bacillus* spp. und *Staphylococcus* spp. zu finden, was vermutlich in deren Häufigkeit begründet liegt. Die identifizierten Mikroorganismen stellen

darüber hinaus Indikatoren für mögliche nosokomiale Infektionserreger dar und besitzen somit eine potentielle Pathogenität, welche von vielen Faktoren wie deren Keimzahl, Tenazität, Pathogenität, Antibiotikaresistenzmuster oder dem Immunstatus des Patienten abhängig ist.

Im Folgenden sollen die Ergebnisse aktueller Studien aus der entsprechenden Fachliteratur diskutiert werden.

(WOOD et al., 2014) untersuchte die keimreduzierende Wirkung eines Dampfreinigungsgerätes (VaporJet PC 2400) mit vorgespannten Tuch auf unterschiedlichen „high-touch“ Oberflächen (Armlehne, Bettgeländer, Tisch, Waschbecken, Türknauf) in Krankenhauszimmern. Die Probenentnahme erfolgte hier mit angefeuchteten sterilen Baumwollstofftüchern und die Auswertung erfolgte nach Keimspezies (HPC, Coliforme, MISA und MRSA, *C. difficile*). Die insgesamt Reduktionsrate lag nach 5 s Bedampfungszeit bei allen Keimen durchwegs über 90 % und meist unterhalb der Nachweisgrenze.

Auch die Studien von SEXTON et al. (2011) und ABERNETHY et al. (2013); GILLESPIE et al. (2013); GILLESPIE et al. (2015) stufen die Dampfreinigung unter praxisnahen Feldbedingungen als effektive, effiziente und keimreduzierende Reinigungsmethode ein, die nicht nur in der täglichen Reinigungspraxis, sondern auch in Gastroenteritis Ausbruchssituationen hilfreich sein kann.

Eine aktuelle Studie von WHITE et al. (2007) untersuchte die Wirkung eines Dampfreinigungsgerätes in einer veterinärmedizinischen Klinik mittels eines Tupfverfahrens. In dieser Studie wurden fünf unterschiedliche Oberflächenarten eingeschlossen und die Ergebnisse in HPC, *S. aureus*, *Pa* und coliforme Erreger unterteilt. Nach 10 s Bedampfungszeit lag die erreichte bakterielle Reduktionsrate auf den meisten kontaminierten Oberflächen bei über 99 %. Somit stellte die Dampfreinigung eine effektive Dekontaminationsmethode gegen die Indikatororganismen dar.

### **3. Schlussfolgerungen**

Ziel der hier durchgeführten Studie war es nicht, eine Desinfektionsmittelprüfung gemäß DVG-Richtlinien durchzuführen, sondern stattdessen zu prüfen, ob und in welchem Maße Dampfreinigung eine Keimreduktion auf Oberflächen unter laborexperimentellen Bedingungen und unter praxisnahen Einsatzbedingungen in

medizinischen Einrichtungen erreichen kann. Die Laborstudie wurde hierfür zum Teil an Vorgaben der DVG angelehnt, jedoch mussten die Prüfbedingungen in vielerlei Hinsicht angepasst und abgeändert werden. Das Dampfreinigungsgerät AFG 6000 der Firma Asum Favorit® GmbH erzielte sowohl unter standardisierten Laborbedingungen als auch unter Feldbedingungen eine signifikante Keimreduktion. Dies lässt auf eine effektive, schnelle und weitläufig einsetzbare Reduktionsfähigkeit schließen, welche v. a. in medizinischen Einrichtungen von großem Nutzen sein könnte.

Das Dampfreinigungsgerät reduzierte Pathogenkonzentrationen von ausgewählten Indikatororganismen (grampositives Bakterium, gramnegatives Bakterium, Pilzsporen) um 2 - 4 log-Stufen innerhalb kürzester Anwendungszeit unter laborexperimentellen Bedingungen. Biofilme sind für gewöhnlich am schwierigsten zu eliminieren. Dennoch erreichte die Dampfreinigung hier Reduktionen um > 2 bzw. > 3 log-Stufen, während hingegen konventionelle Desinfektionsverfahren häufig scheitern WOOD et al. (2014).

In der Feldstudie zeigten zwei der drei ausgewählten Lokalisationen ungenügende Reduktionsergebnisse. Zum einen scheinen Antirutsch-Gummiauflagen nicht geeignet für die Dampfreinigung zu sein und sind aufgrund hoher Kontaminationsraten zudem als kritisch im alltäglichen Praxisgebrauch zu beurteilen. Auch der PVC - Fußboden erreichte keine zufriedenstellenden Reduktionsraten. Hier ist eine Materialkomponente eher unwahrscheinlich, da in der Laborstudie effektive Reduktionen erzielt werden konnten. Dennoch könnten Faktoren, wie der geringe Probenumfang, die kurze Bedampfungsdauer, die hohe Variationsmöglichkeit, die Varianz an unterschiedlichen Mikroorganismen, der Verschmutzungsgrad oder der Abnutzungsgrad des Bodens die Ergebnisse beeinflussen. Längere und wiederholte Bedampfungszeiten können hier höhere Reduktionsraten erzielen, wie andere Studien bereits bewiesen (TAKEO et al., 1994; OIE et al., 1996).

Diese Studie umfasste keine Prüfung von Bakteriensporen, Viren, Parasiten, Prionen und vegetativen Pilzen. Zudem wurde das Verfahren nur auf ausgewählten Oberflächen und mit bestimmten Bedampfungszeiten durchführt, eine Verallgemeinerung dieser Faktoren ist daher nicht möglich. Das Dampfreinigungsgerät wurde ausschließlich mit maximaler Dampf- und Saugkraft verwendet. Veränderte Reduktionsraten sind jedoch während des Dauerbetriebs

möglich, da die maximale Dampftemperatur möglicherweise nicht konstant aufrecht erhalten werden kann. Auch die Verwendung anderer Saugaufsätze oder das Vorspannen von Tüchern vor die Dampfaustrittsdüse, könnten die Keimreduktion beeinflussen. Die möglichen Auswirkungen von zunehmend keimbelasteten Wasserbehältern im Gerät auf dessen Reduktionsfähigkeit sollte auch beachtet werden, da in dieser Studie täglich ein Wasserwechsel und einmal wöchentlich eine Desinfektion des Behälters vorgenommen wurde.

Dampf gehört zu den ältesten und bewährtesten thermischen Desinfektionsverfahren und wird seit Jahrzehnten in Form von Autoklaven zur Sterilisation eingesetzt. Die Dampftechnologie mittels portabler Dampfreinigungsgeräte gehört heute zu den vielversprechendsten modernen Dekontaminationsmethoden. Jedoch müssen auch folgende Nachteile berücksichtigt werden. Zum einen ist es möglich, dass die Dampfreinigung Wasserrückstände auf den behandelten Oberflächen hinterlässt und somit ein Mikroklima für Mikroorganismen schaffen könnte. Auch die Abhängigkeit des Reduktionserfolges von Bedampfungstemperatur, -zeit, -abstand und zu bedampfender Oberflächenstruktur können beeinträchtigende Faktoren darstellen. Darüber hinaus könnte eine mögliche Keimverwirbelung und Keiminhalation zu Einschränkungen führen. Auf manchen Oberflächen, wie elektrischen Gegenständen oder hitzeempfindlichen Flächen, ist die Dampfreinigung nicht einsetzbar.

Zu den Vorteilen der Dampfreinigung zählt die Umweltfreundlichkeit des Verfahrens, da dieses auf den Einsatz von Chemikalien vollständig verzichtet und sehr wassersparend arbeitet. Die kürzeren Einwirkzeiten, das fehlende Auftreten von Desinfektionsmittelresistenzen und chemischen Reaktionen sind im Vergleich zu chemischen Desinfektionsmitteln zudem von Vorteil. Die Dampfreinigung ist gegen ein großes Keimspektrum effektiv, so etwa auch gegen nosokomiale Infektionserreger, wie MRSA und VRE (SEXTON et al., 2011; WOOD et al., 2014). Selbst schwierig zu desinfizierende Keime wie Endosporen von *C. difficile* bzw. Biofilmformationen können effektiv dekontaminiert werden (TANNER, 2009). Darüber hinaus verbindet die Dampfreinigung sowohl Reinigung als auch Desinfektion in nur einem Schritt. Die vielseitige Anwendbarkeit in human- und veterinärmedizinischen Einrichtungen oder in Privathaushalten und auf Oberflächen, wie z. B. Polstermöbeln oder Teppichböden, vereinfachen den



Einsatz. Chemische Desinfektionsmittel sind häufig toxisch für Mensch und Tier und können gesundheitliche Schäden wie etwa Irritationen, Sensibilisierungen oder Atemwegsproblematiken hervorrufen. Dieses Attribut fehlt bei der Dampfreinigung vollständig.

Oberflächen tragen zu der Entstehung von nosokomialen Infektionen bei (TANNER, 2009; SONG et al., 2012). Auch wenn dieser Beitrag aufgrund seiner multifaktoriellen Natur schwierig zu evaluieren ist und das Risiko eher als gering eingeschätzt wird, ist eine saubere Umwelt in medizinischen Einrichtungen von herausragender Bedeutung und wirkt sich positiv auf die Reduktion nosokomialer Infektionsraten aus (CARLING & HUANG, 2013; OTTER et al., 2013). Die Bereitstellung steriler Oberflächen ist aufgrund rascher Rekontamination utopisch. Jedoch sollte stattdessen das Ziel darin bestehen, die Anzahl an Mikroorganismen derart zu reduzieren, dass eine Entstehung von nosokomialen Infektionen soweit wie möglich minimiert wird. Viele Faktoren, ausgehend von Mikroorganismenspezies, Infektiosität des Erregers oder Umweltparametern, erschweren die Formulierung konkreter Hygienestandards. Gezieltes Umweltmonitoring ist nötig, um effektive und risikoorientierte Dekontaminationsverfahren formulieren zu können.

In dieser Studie erreichte die Dampftechnologie effektive und signifikante Reduktionsraten auf einer Reihe unterschiedlicher Oberflächen unter laborexperimentellen Bedingungen. Jedoch zeigten zwei von drei untersuchten Flächen unter praxisnahen Vorgaben in einer Tierklinik unzureichende Reduktionsraten. Hier könnten längere und wiederholte Bedampfungszeiten und ein größerer Probenumfang bessere Resultate erreichen. Diese Faktoren sollten in zukünftigen Studien berücksichtigt werden. Nichtsdestotrotz könnten Dampfreinigungsgeräte in Zukunft eine wertvolle, schnelle, umweltfreundliche und weitläufig einsetzbare Ergänzung oder gar Alternative zu chemischen Desinfektionsmitteln in medizinischen Einrichtungen darstellen. Um diese Technologie noch besser beurteilen zu können, sind weiterführende Untersuchungen, etwa bezüglich veränderter Rekontaminationsraten im Vergleich zu konventionellen Dekontaminationsmaßnahmen oder veränderte Testbedingungen (Testflächen, Keimspektren), von Nöten.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Reinigung und Desinfektion spielen im Gesundheitswesen eine entscheidende Rolle und helfen die Häufigkeit nosokomialer Infektionen zu reduzieren. Die Dampfreinigungstechnologie wird in der Fachliteratur als schnelle und chemikalienfreie Alternative zur Dekontamination von Oberflächen dargestellt. Diese Studie untersuchte die bakterizide und sporozide Wirksamkeit eines handelsüblichen Dampfreinigungsgerätes (AFG 6000, Asum Favorit GmbH, Neusäß, Deutschland) unter kontrollierten Laborbedingungen und unter praxisnahen Gegebenheiten in einer Tierklinik.

Verschiedene Oberflächenarten (Fliese, PVC, Linoleum) wurden entweder mit bakteriellen Testkeimsuspensionen- bestehend aus *Staphylococcus pseudintermedius* (*Sp*) oder *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) in zwei unterschiedlichen Konzentrationen (McFarland (McF) 1.0 und 4.0) wie auch mit über Nacht generiertem Biofilm oder einer Sporensuspension mit *Microsporum canis* (*Mc*) Sporen beimpft. Nach der Kontamination wurde jede Probe mit dem Dampfreinigungsgerät für eine oder drei Sekunden behandelt. Im Anschluss wurden verbleibende Mikroorganismen in Bechergläsern mit Kochsalzlösung (NaCl) auf einem Laborschüttler von den Testflächen abgespült und Aliquots der Waschflüssigkeit auf Agarplatten inkubiert. Die Reduktionseffektivität wurde mittels kolonienbildenden Einheiten (KbE) im Vergleich zu kontaminierten, nicht behandelten Keimträgern (Negativkontrollen) dargestellt. In der Feldstudie wurde die Dampfreinigungstechnologie über einen Zeitraum von zehn Tagen auf drei unterschiedlichen Oberflächen (Fußboden, Behandlungstisch, Mikroskopiertisch) mit 1 s Bedampfungszeit beurteilt und Reduktionsraten mit Hilfe von CFU auf Abklatschproben beschrieben.

Die Keimzahlreduktion von *Sp* war auf allen untersuchten Oberflächen nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit signifikant. Hierbei wurde eine > 3 log Reduktion (99,92 %) bei McF 1.0 beziehungsweise eine > 4 log Reduktion (99,99 %) bei McF 4.0 erzielt. Bei *Pa* waren nur die Ergebnisse im McF 4.0 Bereich signifikant mit einer Keimzahlreduktion auf allen Oberflächen von > 2 log Stufen (99,21 %) nach 1 s Bedampfung. In der höchsten Konzentrationsstufe (über Nacht generierter Biofilm) reduzierte die Dampfreinigung die kolonienbildenden

Einheiten (KbE) von *Sp* nach 1 und 3 s signifikant um  $> 2$  log Stufen. Biofilme mit *Pa* erreichten nach 1 s eine signifikante Reduktion um  $> 1$  log Stufe (98,83 %) und um  $> 3$  log Stufen nach 3 s. Nach der Dampfreinigung konnten *Mc* Sporenbelastungen signifikant um  $> 4$  log Stufen (99,99 %) nach 1 und 3 s reduziert werden. In der Feldstudie wies der Mikroskopiertisch eine signifikante Keimzahlreduktion von 100 %, der Fußboden von 95,7 % und der Untersuchungstisch von 89,1 % auf. Auf den Abklatschproben wurden in der Feldstudie am häufigsten *Staphylococcus* spp., gefolgt von *Bacillus* spp. und *Streptococcus* spp., mittels Kultivierung und MALDI-TOF MS ermittelt.

Das Dampfreinigungsgerät erreichte unter Laborbedingungen durch kurze Anwendungszeiten auf verschiedenen Oberflächen eine effektive und signifikante Reduktion von vegetativen Bakterien und Pilzsporen. Die Reduktionseffektivität unter praxisnahen Bedingungen in einer Tierklinik war auf zwei von drei Testflächen ungenügend und erfordert weitere experimentelle Untersuchungen in Feldstudien. Nichtsdestotrotz könnte die Dampfreinigungstechnologie in der Reduktion nosokomialer Infektionsraten hilfreich sein und sich zukünftig zu einer wertvollen, schnellen, umweltfreundlichen und vielseitig einsetzbaren Ergänzung oder gar Alternative zur chemischen Desinfektion im Gesundheitswesen entwickeln.

## VII. SUMMARY

Environmental cleaning and disinfection plays a crucial role in hospital settings and helps reducing the risks of healthcare-associated infections (HAI). The scientific literature suggests that steam vapor technology could achieve rapid and chemical-free surface decontamination. This study evaluated the bactericidal and sporicidal efficacy of a commercially available portable steam vapor system (AFG 6000, Asum Favorit GmbH, Neusaess, Germany) under controlled laboratory conditions and in a veterinary clinic environment. Various types of floor materials (tiles, PVC and linoleum) were coated with either bacterial suspensions of *Staphylococcus pseudintermedius* (*Sp*) or *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) in two concentrations (McFarland (McF) 1.0 and McF 4.0) as well as with biofilms or with spores of *Microsporum canis* (*Mc*). After contamination each sample was cleaned with the steam cleaner for one or three seconds. Subsequently, surviving microorganisms were rinsed off in jars containing NaCl on a laboratory shaker, and aliquots of the rinsing solution were cultured on agar plates. Reduction efficacy was determined by colony forming units (CFU) related to contaminated, but untreated controls. In a field trial the steam cleaning technology was tested over a period of ten days on three different surfaces (floor, treatment table, microscopy table), and reduction efficacy was evaluated with contact sampling.

The reduction in CFU of *Sp* on all floor types after 1 and 3 s of steam treatment was significant. A > 3 log reduction (99.92 % killing) at McF 1.0 respectively > 4 log reduction (99.99 % killing) at McF 4.0 was achieved. With *Pa* only the results of McF 4.0 were significant. After one second numbers of surviving microorganisms were reduced by > 2 log (99.21 % killing) on all floor types. The highest concentration (biofilm created over night) scored significant reduction efficacies in CFU of *Sp* in 1 and 3 s by > 2 log. Steam cleaning of biofilms created with *Pa* achieved a > 1 log reduction (98.83 %) within 1 s and > 3 log reduction within 3 s. After steam cleaning *Mc* spores were minimized significantly by > 4 log after 1 and 3 s. In the field trial experiments steam treatment reduced microorganisms significantly on the microscopy table 100 %, on the floor 95.7 % and on the examination table 89.1 %. The microorganisms most frequently detected on the contact samples were *Staphylococcus* spp., followed by

---

*Bacillus* spp. and *Streptococcus* spp. as determined by culture and MALDI-TOF MS species differentiation.

The steam cleaning unit significantly reduces bacterial organisms and fungal spores on various types of surfaces under controlled laboratory conditions with brief application times. Reduction efficacy in a veterinary hospital setting was insufficient in two of three tested surfaces and requires further clinical studies. Nevertheless the steam technology may be useful to reduce HAI and may prove to be a valuable, rapid, environmentally friendly and broadly applicable adjunct or even alternative method to chemical disinfection, without the drawbacks associated with chemicals, within hospital settings in future.

---

## VIII. LITERATURVERZEICHNIS

Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. J Clin Microbiol 2005; 43: 5721-32.

Abernethy M, Gillespie E, Snook K, Stuart RL. Microfiber and steam for environmental cleaning during an outbreak. Am J Infect Control 2013; 41: 1134-5.

Abraham JL, Morris DO, Griffeth GC, Shofer FS, Rankin SC. Surveillance of healthy cats and cats with inflammatory skin disease for colonization of the skin by methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi ssp. schleiferi*. Vet Dermatol 2007; 18: 252-9.

Abreu AC, Tavares RR, Borges A, Mergulhao F, Simoes M. Current and emergent strategies for disinfection of hospital environments. J Antimicrob Chemother 2013; 68: 2718-32.

Aksoy E, Boag A, Brodbelt D, Grierson J. Evaluation of surface contamination with staphylococci in a veterinary hospital using a quantitative microbiological method. J Small Anim Pract 2010; 51: 574-80.

Allesen-Holm M, Barken KB, Yang L, Klausen M, Webb JS, Kjelleberg S, Molin S, Givskov M, Tolker-Nielsen T. A characterization of DNA release in *Pseudomonas aeruginosa* cultures and biofilms. Mol Microbiol 2006; 59: 1114-28.

Alpers K, Stark K, Hellenbrand W, Ammon A. Zoonotic infections in humans. Review of the epidemiological situation in Germany. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz 2004; 47: 622-32.

Anwar H, Costerton JW. Enhanced activity of combination of tobramycin and

piperacillin for eradication of sessile biofilm cells of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother 1990; 34: 1666-71.

Ashby MJ, Neale JE, Knott SJ, Critchley IA. Effect of antibiotics on non-growing planktonic cells and biofilms of *Escherichia coli*. J Antimicrob Chemother 1994; 33: 443-52.

Ayliffe GA, Collins BJ, Lowbury EJ. Cleaning and disinfection of hospital floors. Br Med J 1966; 2: 442-5.

Ayliffe GA, Collins BJ, Lowbury EJ, Babb JR, Lilly HA. Ward floors and other surfaces as reservoirs of hospital infection. J Hyg (Lond) 1967; 65: 515-36.

Baptiste KE, Williams K, Willams NJ, Wattret A, Clegg PD, Dawson S, Corkill JE, O'Neill T, Hart CA. Methicillin-resistant staphylococci in companion animals. Emerg Infect Dis 2005; 11: 1942-4.

Benedict KM, Morley PS, Van Metre DC. Characteristics of biosecurity and infection control programs at veterinary teaching hospitals. J Am Vet Med Assoc 2008; 233: 767-73.

Bjarnsholt T, Kirketerp-Moller K, Kristiansen S, Phipps R, Nielsen AK, Jensen PO, Hoiby N, Givskov M. Silver against *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Apmis 2007; 115: 921-8.

Bjarnsholt T, Jensen PO, Fiandaca MJ, Pedersen J, Hansen CR, Andersen CB, Pressler T, Givskov M, Hoiby N. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. Pediatr Pulmonol 2009; 44: 547-58.

Block SS (2001) Disinfection, Sterilization, and Preservation. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia

Boerlin P, Eugster S, Gaschen F, Straub R, Schawalder P. Transmission of

opportunistic pathogens in a veterinary teaching hospital. *Vet Microbiol* 2001; 82: 347-59.

Bond R, Loeffler A. What's happened to *Staphylococcus intermedius*? Taxonomic revision and emergence of multi-drug resistance. *J Small Anim Pract* 2012; 53: 147-54.

Boyce JM, Havill NL, Otter JA, McDonald LC, Adams NM, Cooper T, Thompson A, Wiggs L, Killgore G, Tauman A, Noble-Wang J. Impact of hydrogen peroxide vapor room decontamination on *Clostridium difficile* environmental contamination and transmission in a healthcare setting. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29: 723-9.

Bridier A, Briandet R, Thomas V, Dubois-Brissonnet F. Comparative biocidal activity of peracetic acid, benzalkonium chloride and orthophthalaldehyde on 77 bacterial strains. *J Hosp Infect* 2011; 78: 208-13.

Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz (2000) Gesetz zur Verhütung und Bekämpfung von Infektionskrankheiten beim Menschen (Infektionsschutzgesetz - IfSG) § 2, 18, 36

Carling PC, Briggs JL, Perkins J, Highlander D. Improved cleaning of patient rooms using a new targeting method. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 385-8.

Carling PC, Parry MF, Von Beheren SM. Identifying opportunities to enhance environmental cleaning in 23 acute care hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008a; 29: 1-7.

Carling PC, Von Beheren S, Kim P, Woods C. Intensive care unit environmental cleaning: an evaluation in sixteen hospitals using a novel assessment tool. *J Hosp Infect* 2008b; 68: 39-44.

Carling PC, Huang SS. Improving healthcare environmental cleaning and



disinfection: current and evolving issues. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013; 34: 507-13.

Carter Y, Barry D. Tackling *Clostridium difficile* with environmental cleaning. *Nurs Times* 2011; 107: 22-5.

Christiansen B, Grabowski B, Kirstein P (1995) Arbeitsbuch Hygiene für Pflegeberufe und andere Medizinalfachberufe. Urban & Fischer Verlag, München

Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 1995; 49: 711-45.

Costerton W, Veeh R, Shirtliff M, Pasmore M, Post C, Ehrlich G. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *J Clin Invest* 2003; 112: 1466-77.

Dancer SJ, White LF, Lamb J, Girvan EK, Robertson C. Measuring the effect of enhanced cleaning in a UK hospital: a prospective cross-over study. *BMC Med* 2009; 7: 28.

Dancer SJ. Controlling hospital-acquired infection: focus on the role of the environment and new technologies for decontamination. *Clin Microbiol Rev* 2014; 27: 665-90.

Daschner F, Rabbenstein G, et al. Flächenkontamination zur Verhütung und Bekämpfung von Krankenhausinfektionen. *Dtsch Med Wochenschr* 1980; 105: 325-9.

Datta R, Platt R, Yokoe DS, Huang SS. Environmental cleaning intervention and risk of acquiring multidrug-resistant organisms from prior room occupants. *Arch Intern Med* 2011; 171: 491-4.

Dematteo R, Warden D, Marshall J, Goodyear N. Fabric softeners impact

cleaning, but not disinfection, by a saturated steam vapor system. Am J Infect Control 2014; 42: 462-3.

Dettenkofer M, Wenzler S, Amthor S, Antes G, Motschall E, Daschner FD. Does disinfection of environmental surfaces influence nosocomial infection rates? A systematic review. Am J Infect Control 2004; 32: 84-9.

Deutschen Institut für Normung e.V. (2001) DIN EN 556-1 Sterilisation von Medizinprodukten - Anforderungen an Medizinprodukte, die als "STERIL" gekennzeichnet werden - Teil 1: Anforderungen an Medizinprodukte, die in der Endpackung sterilisiert wurden

Deutschen Institut für Normung e.V. (2006) Norm DIN EN ISO 17665-1:2006-11 Sterilisation von Produkten für die Gesundheitsfürsorge - Feuchte Hitze - Teil 1: Anforderungen an die Entwicklung, Validierung und Lenkung der Anwendung eines Sterilisationsverfahrens für Medizinprodukte

Deutschen Institut für Normung e.V. (2009) Norm DIN 10516:2009-05: Lebensmittelhygiene - Reinigung und Desinfektion

Dharan S, Mourouga P, Copin P, Bessmer G, Tschanz B, Pittet D. Routine disinfection of patients' environmental surfaces. Myth or reality? J Hosp Infect 1999; 42: 113-7.

Driffield K, Miller K, Bostock JM, O'Neill AJ, Chopra I. Increased mutability of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms. J Antimicrob Chemother 2008; 61: 1053-6.

DVG. VI Methoden der Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln für die Tierärztliche Praxis. Gießen: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 2013a: [http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG\\_Desinfektion/Dokumente/Fuer\\_Gutachter/Pruefrichtlinien/6-RL-TAEPrax-2013-02-17.pdf](http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Fuer_Gutachter/Pruefrichtlinien/6-RL-TAEPrax-2013-02-17.pdf). 17.02.2013.

DVG. Anforderungstabelle Prüfrichtlinien Lebensmittelbereich. Gießen: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 2013b: [http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG\\_Desinfektion/Dokumente/Fuer\\_Gutachter/Pruefrichtlinien/Anforderungstabelle\\_LM\\_2013-02-17.pdf](http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Fuer_Gutachter/Pruefrichtlinien/Anforderungstabelle_LM_2013-02-17.pdf). 17.02.2013.

DVG. 8. Liste der nach den Richtlinien der DVG (4. Auflage) geprüften und als wirksam befundenen Desinfektionsmittel für den Lebensmittelbereich (Handelspräparate). Gießen: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 2015a: [http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG\\_Desinfektion/Dokumente/Listen/Lebensmittelbereich/2016-26Jan-LM8-Homepage.pdf](http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Listen/Lebensmittelbereich/2016-26Jan-LM8-Homepage.pdf). 27.05.2015.

DVG. V Methoden der Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln für die Tierhaltung. Gießen: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 2015b: [http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG\\_Desinfektion/Dokumente/Fuer\\_Gutachter/Pruefrichtlinien/5-RL-TH\\_21Feb2015.pdf](http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Fuer_Gutachter/Pruefrichtlinien/5-RL-TH_21Feb2015.pdf). 24.03.2015.

DVG. 1. Liste der nach den Richtlinien der DVG (4. Auflage) oder nach DVG - anerkannten Methoden geprüften und als wirksam befundenen Desinfektionsmittel (Handelspräparate) für die Anwendung in der Tierärztlichen Praxis und in Tierheimen. Gießen: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 2015c: [http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG\\_Desinfektion/Dokumente/Listen/Tieraerztliche\\_Praxis/TAE\\_P\\_29Oktober2015.pdf](http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Listen/Tieraerztliche_Praxis/TAE_P_29Oktober2015.pdf). 18.05.2015.

DVG. VII Methoden der Prüfung von chemischen Desinfektionsmitteln für den Lebensmittelbereich. Gießen: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 2015d: [http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG\\_Desinfektion/Dokumente/Fuer\\_Gutachter/Pruefrichtlinien/7-RL-LM-gesamt-2013-02-17-aktuell.pdf](http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Fuer_Gutachter/Pruefrichtlinien/7-RL-LM-gesamt-2013-02-17-aktuell.pdf). 24.03.2015.

DVG. 13. Liste der nach den Richtlinien der DVG (4. Auflage sowie 3. Auflage für Übergangszeit) geprüften und als wirksam befundenen Desinfektionsmittel für

den Tierhaltungsbereich (Handelspräparate). Gießen: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 2015e: [http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG\\_Desinfektion/Dokumente/Listen/Tierhaltungsbereich/2016-26Jan-TH13-Homepage.pdf](http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Listen/Tierhaltungsbereich/2016-26Jan-TH13-Homepage.pdf). 12.05.2015.

DVG. Anforderungstabelle Prüfrichtlinien Tierhaltung, Tierärztliche Praxis und Tierheime. Gießen: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 2015f: [http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG\\_Desinfektion/Dokumente/Fuer\\_Gutachter/Pruefrichtlinien/Anforderungstabelle\\_DVG-TH-TP-2015-04-21.pdf](http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Fuer_Gutachter/Pruefrichtlinien/Anforderungstabelle_DVG-TH-TP-2015-04-21.pdf). 21.04.2015.

DVG. Vorwort zum Gebrauch der Desinfektionsmittellisten der DVG,. Gießen: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft 2015g: [http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG\\_Desinfektion/Dokumente/Listen/12-10-12-Vorwort-alleListen.pdf](http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Listen/12-10-12-Vorwort-alleListen.pdf). 24.03.2015.

DVG. I. Einleitung. Gießen: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 2015h: [http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG\\_Desinfektion/Dokumente/Fuer\\_Gutachter/Pruefrichtlinien/2-Einleitung\\_21Feb2015.pdf](http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Fuer_Gutachter/Pruefrichtlinien/2-Einleitung_21Feb2015.pdf). 24.03.2015.

DVG. II. Voraussetzungen für die Desinfektionsmittelprüfung und Aufnahme in die Desinfektionsmittellisten der DVG. Gießen: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 2015i: [http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG\\_Desinfektion/Dokumente/Fuer\\_Gutachter/Pruefrichtlinien/3-Voraussetzungen\\_21Feb2015.pdf](http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Fuer_Gutachter/Pruefrichtlinien/3-Voraussetzungen_21Feb2015.pdf). 24.03.2015.

DVG. Vorwort zur 4. Auflage. Gießen: Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft, 2015j: [http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG\\_Desinfektion/Dokumente/Fuer\\_Gutachter/Pruefrichtlinien/1-Vorwort\\_21Feb2015.pdf](http://www.desinfektion-dvg.de/fileadmin/FG_Desinfektion/Dokumente/Fuer_Gutachter/Pruefrichtlinien/1-Vorwort_21Feb2015.pdf). 24.03.2015.

European Centre for Disease Prevention and Control (2013) Point prevalence

survey of healthcare - associated infections and antimicrobial use in European acute care hospitals (2011 - 2012)

European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2013. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Solna: European Centre for Disease Prevention and Control, 2014: [http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/surveillance\\_reports/arhai/Pages/annual-antimicrobial-resistance-surveillance-report.aspx](http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/surveillance_reports/arhai/Pages/annual-antimicrobial-resistance-surveillance-report.aspx). 03.03.2015.

Exner M, Vacata V, Hornei B, Dietlein E, Gebel J. Household cleaning and surface disinfection: new insights and strategies. J Hosp Infect 2004; 56 Suppl 2: S70-5.

Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. Nat Rev Microbiol 2010; 8: 623-33.

Foster WD, Hutt MS. Experimental staphylococcal infections in man. Lancet 1960; 2: 1373-6.

Francey T, Gaschen F, Nicolet J, Burnens AP. The role of *Acinetobacter baumannii* as a nosocomial pathogen for dogs and cats in an intensive care unit. J Vet Intern Med 2000; 14: 177-83.

Fux CA, Costerton JW, Stewart PS, Stoodley P. Survival strategies of infectious biofilms. Trends Microbiol 2005; 13: 34-40.

Gastmeier P, Rüden H (2003) Repetitorium Hygiene. Das wichtigste im Überblick für medizinisches Personal. Aesopus-Verlag, Ettlingen

Gatoria IS, Saini NS, Rai TS, Dwivedi PN. Comparison of three techniques for the diagnosis of urinary tract infections in dogs with urolithiasis. J Small Anim Pract 2006; 47: 727-32.

Gebel J, Exner M, French G, Chartier Y, Christiansen B, Gemein S, Goroncy-Bermes P, Hartemann P, Heudorf U, Kramer A, Maillard JY, Oltmanns P, Rotter M, Sonntag HG. The role of surface disinfection in infection prevention. *GMS Hyg Infect Control* 2013; 8: Doc10.

Gilbert P, Collier PJ, Brown MR. Influence of growth rate on susceptibility to antimicrobial agents: biofilms, cell cycle, dormancy, and stringent response. *Antimicrob Agents Chemother* 1990; 34: 1865-8.

Gillespie E, Wilson J, Lovegrove A, Scott C, Abernethy M, Kotsanas D, Stuart RL. Environment cleaning without chemicals in clinical settings. *Am J Infect Control* 2013; 41: 461-3.

Gillespie E, Williams N, Sloane T, Wright L, Kotsanas D, Stuart RL. Using microfiber and steam technology to improve cleaning outcomes in an intensive care unit. *Am J Infect Control* 2015; 43: 177-9.

Goodman ER, Platt R, Bass R, Onderdonk AB, Yokoe DS, Huang SS. Impact of an environmental cleaning intervention on the presence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant enterococci on surfaces in intensive care unit rooms. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29: 593-9.

Griffeth GC, Morris DO, Abraham JL, Shofer FS, Rankin SC. Screening for skin carriage of methicillin-resistant coagulase-positive staphylococci and *Staphylococcus schleiferi* in dogs with healthy and inflamed skin. *Vet Dermatol* 2008; 19: 142-9.

Griffith C. HACCP and the management of healthcare associated infections: are there lessons to be learnt from other industries? *Int J Health Care Qual Assur Inc Leadersh Health Serv* 2006; 19: 351-67.

Gristina AG, Oga M, Webb LX, Hobgood CD. Adherent bacterial colonization in the pathogenesis of osteomyelitis. *Science* 1985; 228: 990-3.

Guerra B, Fischer J, Helmuth R. An emerging public health problem: acquired carbapenemase-producing microorganisms are present in food-producing animals, their environment, companion animals and wild birds. *Vet Microbiol* 2014; 171: 290-7.

Guerrero DM, Nerandzic MM, Jury LA, Jinno S, Chang S, Donskey CJ. Acquisition of spores on gloved hands after contact with the skin of patients with *Clostridium difficile* infection and with environmental surfaces in their rooms. *Am J Infect Control* 2012; 40: 556-8.

Haas A, Platz S, Eichhorn W, Kaaden OR, Unshelm J. Effect of steam application based on microbiological and parasitologic test procedures. *Zentralbl Hyg Umweltmed* 1998; 201: 337-47.

Hall-Stoodley L, Hu FZ, Gieseke A, Nistico L, Nguyen D, Hayes J, Forbes M, Greenberg DP, Dice B, Burrows A, Wackym PA, Stoodley P, Post JC, Ehrlich GD, Kerschner JE. Direct detection of bacterial biofilms on the middle-ear mucosa of children with chronic otitis media. *Jama* 2006; 296: 202-11.

Hanselman BA, Kruth S, Weese JS. Methicillin-resistant staphylococcal colonization in dogs entering a veterinary teaching hospital. *Vet Microbiol* 2008; 126: 277-81.

Havill NL, Havill HL, Mangione E, Dumigan DG, Boyce JM. Cleanliness of portable medical equipment disinfected by nursing staff. *Am J Infect Control* 2011; 39: 602-4.

Hayden MK, Bonten MJ, Blom DW, Lyle EA, van de Vijver DA, Weinstein RA. Reduction in acquisition of vancomycin-resistant enterococcus after enforcement of routine environmental cleaning measures. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 1552-60.

Hayden MK, Blom DW, Lyle EA, Moore CG, Weinstein RA. Risk of hand or glove contamination after contact with patients colonized with vancomycin-

resistant enterococcus or the colonized patients' environment. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008; 29: 149-54.

Hegstad K, Langsrud S, Lunestad BT, Scheie AA, Sunde M, Yazdankhah SP. Does the wide use of quaternary ammonium compounds enhance the selection and spread of antimicrobial resistance and thus threaten our health? *Microb Drug Resist* 2010; 16: 91-104.

Hein B (2013) *Hygiene für Pflegeberufe*. Urban&Fischer Verlag, München

Hoiby N, Doring G, Schiotz PO. The role of immune complexes in the pathogenesis of bacterial infections. *Annu Rev Microbiol* 1986; 40: 29-53.

Hoiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, Molin S, Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 35: 322-32.

Hota B. Contamination, disinfection, and cross-colonization: are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection? *Clin Infect Dis* 2004; 39: 1182-9.

Huang SS, Datta R, Platt R. Risk of acquiring antibiotic-resistant bacteria from prior room occupants. *Arch Intern Med* 2006; 166: 1945-51.

Huslage K, Rutala WA, Sickbert-Bennett E, Weber DJ. A quantitative approach to defining "high-touch" surfaces in hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010; 31: 850-3.

Jones HC, Roth IL, Sanders WM, 3rd. Electron microscopic study of a slime layer. *J Bacteriol* 1969; 99: 316-25.

Juwarkar CS. Cleaning and sterilisation of anaesthetic equipment. *Indian J Anaesth* 2013; 57: 541-50.

Karatan E, Watnick P. Signals, regulatory networks, and materials that build and



break bacterial biofilms. Microbiol Mol Biol Rev 2009; 73: 310-47.

Kasimanickam RK, Ranjan A, Asokan GV, Kasimanickam VR, Kastelic JP. Prevention and treatment of biofilms by hybrid- and nanotechnologies. Int J Nanomedicine 2013; 8: 2809-19.

Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention beim Robert-Koch-Institut (RKI). Anforderungen an die Hygiene bei der Reinigung und Desinfektion von Flächen. Berlin: Bundesgesundheitsblatt 2004: [https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Kommission/Downloads/Flaeche\\_Rili.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Kommission/Downloads/Flaeche_Rili.pdf?__blob=publicationFile). 01.07.2015.

Kostakioti M, Hadjifrangiskou M, Hultgren SJ. Bacterial biofilms: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. Cold Spring Harb Perspect Med 2013; 3: a010306.

Kottler S, Middleton JR, Perry J, Weese JS, Cohn LA. Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in three populations. J Vet Intern Med 2010; 24: 132-9.

Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. BMC Infect Dis 2006; 6: 130.

Kramer A, Assadian O (2008) Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung. Qualitätssicherung der Hygiene in Industrie, Pharmazie und Medizin. Thieme Verlag, Stuttgart

Kwasny SM, Opperman TJ. Static biofilm cultures of Gram-positive pathogens grown in a microtiter format used for anti-biofilm drug discovery. Curr Protoc Pharmacol 2010; Chapter 13: Unit 13A 8.

Lawley TD, Clare S, Deakin LJ, Goulding D, Yen JL, Raisen C, Brandt C, Lovell J, Cooke F, Clark TG, Dougan G. Use of purified *Clostridium difficile* spores to

facilitate evaluation of health care disinfection regimens. Appl Environ Microbiol 2010; 76: 6895-900.

Lefebvre SL, Waltner-Toews D, Peregrine AS, Reid-Smith R, Hodge L, Arroyo LG, Weese JS. Prevalence of zoonotic agents in dogs visiting hospitalized people in Ontario: implications for infection control. J Hosp Infect 2006; 62: 458-66.

Leonard FC, Abbott Y, Rossney A, Quinn PJ, O'Mahony R, Markey BK. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from a veterinary surgeon and five dogs in one practice. Vet Rec 2006; 158: 155-9.

Lewis K. Persister cells and the riddle of biofilm survival. Biochemistry (Mosc) 2005; 70: 267-74.

Lin D, Foley SL, Qi Y, Han J, Ji C, Li R, Wu C, Shen J, Wang Y. Characterization of antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from canine infections. J Appl Microbiol 2012; 113: 16-23.

Liofilchem. Contact Slide. Roseto degli Abruzzi, Italia: 2012: <http://www.frilabo.pt/Imgs/produtos/import/525282.Instructions.pdf>. 30.07.2015.

Miller WH, Griffin CE, Campbell KL (2013) Small Animal Dermatology. ELSEVIER Inc., Missouri

Molin S, Tolker-Nielsen T. Gene transfer occurs with enhanced efficiency in biofilms and induces enhanced stabilisation of the biofilm structure. Curr Opin Biotechnol 2003; 14: 255-61.

Moodley A, Damborg P, Nielsen SS. Antimicrobial resistance in methicillin susceptible and methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* of canine origin: literature review from 1980 to 2013. Vet Microbiol 2014; 171: 337-41.

Morris DO, Rook KA, Shofer FS, Rankin SC. Screening of *Staphylococcus*

*aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: a retrospective review of 749 isolates (2003-04). *Vet Dermatol* 2006; 17: 332-7.

Morris DO, Boston RC, O'Shea K, Rankin SC. The prevalence of carriage of methicillin-resistant staphylococci by veterinary dermatology practice staff and their respective pets. *Vet Dermatol* 2010; 21: 400-7.

Moskowitz SM, Foster JM, Emerson J, Burns JL. Clinically feasible biofilm susceptibility assay for isolates of *Pseudomonas aeruginosa* from patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 1915-22.

Murphy C, Reid-Smith RJ, Prescott JF, Bonnett BN, Poppe C, Boerlin P, Weese JS, Janecko N, McEwen SA. Occurrence of antimicrobial resistant bacteria in healthy dogs and cats presented to private veterinary hospitals in southern Ontario: A preliminary study. *Can Vet J* 2009; 50: 1047-53.

Murphy CP, Reid-Smith RJ, Boerlin P, Weese JS, Prescott JF, Janecko N, Hassard L, McEwen SA. *Escherichia coli* and selected veterinary and zoonotic pathogens isolated from environmental sites in companion animal veterinary hospitals in southern Ontario. *Can Vet J* 2010; 51: 963-72.

Neely AN, Maley MP. Survival of enterococci and staphylococci on hospital fabrics and plastic. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 724-6.

Nickel JC, Ruseska I, Wright JB, Costerton JW. Tobramycin resistance of *Pseudomonas aeruginosa* cells growing as a biofilm on urinary catheter material. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 27: 619-24.

Nienhoff U, Kadlec K, Chaberny IF, Verspohl J, Gerlach GF, Kreienbrock L, Schwarz S, Simon D, Nolte I. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* among dogs admitted to a small animal hospital. *Vet Microbiol* 2011; 150: 191-7.

Noli C, Scarampella F, Toma S (2014) Praktische Dermatologie bei Hund und Katze - Klinik, Diagnose, Therapie. Schlütersche Verlagsgesellschaft, Hannover

Nseir S, Blazejewski C, Lubret R, Wallet F, Courcol R, Durocher A. Risk of acquiring multidrug-resistant Gram-negative bacilli from prior room occupants in the intensive care unit. Clin Microbiol Infect 2011; 17: 1201-8.

Nuttall T, Cole LK. Evidence-based veterinary dermatology: a systematic review of interventions for treatment of Pseudomonas otitis in dogs. Vet Dermatol 2007; 18: 69-77.

O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. Annu Rev Microbiol 2000; 54: 49-79.

O'Toole GA. Microtiter dish biofilm formation assay. J Vis Exp 2011: 1-2.

Oie S, Huang Y, Kamiya A, Konishi H, Nakazawa T. Efficacy of disinfectants against biofilm cells of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Microbios 1996; 85: 223-30.

Ong KH, Lewis RD, Dixit A, MacDonald M, Yang M, Qian Z. Inactivation of dust mites, dust mite allergen, and mold from carpet. J Occup Environ Hyg 2014; 11: 519-27.

Otter JA, Yezli S, Salkeld JA, French GL. Evidence that contaminated surfaces contribute to the transmission of hospital pathogens and an overview of strategies to address contaminated surfaces in hospital settings. Am J Infect Control 2013; 41: 6-11.

Papich MG. Antibiotic treatment of resistant infections in small animals. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2013; 43: 1091-107.

Portner JA, Johnson JA. Guidelines for reducing pathogens in veterinary

hospitals: disinfectant selection, cleaning protocols, and hand hygiene. *Compend Contin Educ Vet* 2010; 32: 1-11.

Purevdorj B, Costerton JW, Stoodley P. Influence of hydrodynamics and cell signaling on the structure and behavior of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68: 4457-64.

Rabbenstein G (1979) Die Bedeutung verschiedener Flächendekontaminationsmaßnahmen in der Hospitalismusbekämpfung. In: Medizinische Fakultät der Albrecht-Ludwigs-Universität Freiburg i.Br.

Ramage G, Robertson SN, Williams C. Strength in numbers: antifungal strategies against fungal biofilms. *Int J Antimicrob Agents* 2014; 43: 114-20.

Richards GA, Brink AJ, McIntosh R, Steel HC, Cockeran R. Investigation of biofilm formation on a charged intravenous catheter relative to that on a similar but uncharged catheter. *Med Devices (Auckl)* 2014; 7: 219-24.

Robert Koch-Institut. Nosokomiale Infektionen. Gesundheitsberichterstattung des Bundes Heft 8 Berlin: Robert-Koch Institut, 2002: [http://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsT/nosokomiale\\_infektionen.html?nn=2543868](http://www.rki.de/DE/Content/Gesundheitsmonitoring/Gesundheitsberichterstattung/GBEDownloadsT/nosokomiale_infektionen.html?nn=2543868). 27.02.2015.

Robert Koch-Institut. Definition nosokomialer Infektionen (CDC - Definitionen). Berlin: Robert Koch-Institut, 2011: [http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Nosokomiale\\_Infektionen/nosok\\_infekt\\_pdf2.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Nosokomiale_Infektionen/nosok_infekt_pdf2.pdf?__blob=publicationFile). 27.02.2015.

Robert Koch-Institut. Anforderungen an die Hygiene bei der Aufbereitung von Medizinprodukten - Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut (RKI) und des Bundesinstitutes für Arzneimittel und Medizinprodukte (BfArM) Berlin: Robert Koch-Institut, 2012:

[http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Kommission/Downloads/Inhalt\\_MedPro.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Kommission/Downloads/Inhalt_MedPro.pdf?__blob=publicationFile).

Robert Koch-Institut. Bekanntmachung zum Aufnahmeverfahren für Desinfektionsmittel und -verfahren in die vom Robert Koch - Institut gemäß § 18 Infektionsschutzgesetz aufzustellende Liste geprüfter und anerkannter Desinfektionsmittel und -verfahren. Berlin Heidelberg: Springer Verlag 2013a: [http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Desinfektionsmittel/Bekanntmachung.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Desinfektionsmittel/Bekanntmachung.pdf?__blob=publicationFile). 23.03.2015.

Robert Koch-Institut. Vorwort zur Liste der vom Robert Koch - Institut geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren. Berlin Heidelberg: Springer Verlag 2013b: [http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Desinfektionsmittel/Vorwort\\_Liste.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Desinfektionsmittel/Vorwort_Liste.pdf?__blob=publicationFile). 23.03.2015.

Robert Koch-Institut. Liste der vom Robert Koch-Institut geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren. Berlin Heidelberg: Springer Verlag 2013c: [http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Desinfektionsmittel/Desinfektionsmittelliste.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](http://www.rki.de/DE/Content/Infekt/Krankenhaushygiene/Desinfektionsmittel/Desinfektionsmittelliste.pdf?__blob=publicationFile). 01.02.2015.

Ruple-Czerniak A, Aceto HW, Bender JB, Paradis MR, Shaw SP, Van Metre DC, Weese JS, Wilson DA, Wilson JH, Morley PS. Using syndromic surveillance to estimate baseline rates for healthcare-associated infections in critical care units of small animal referral hospitals. J Vet Intern Med 2013; 27: 1392-9.

Rutala W, Association for Professional in Infection Control and Epidemiology (2001) Disinfection, Sterilization, and Antisepsis: Principles and Practices in Healthcare Facilities.

Rutala WA. Disinfection and sterilization of patient-care items. Infect Control Hosp Epidemiol 1996; 17: 377-84.

Rutala WA, Weber DJ. Infection control: the role of disinfection and sterilization. J Hosp Infect 1999; 43 Suppl: S43-55.

Rutala WA, Weber DJ. New disinfection and sterilization methods. Emerg Infect Dis 2001; 7: 348-53.

Rutala WA, Weber DJ. The benefits of surface disinfection. Am J Infect Control 2004; 32: 226-31.

Rutala WA, Weber DJ, Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention 2008: [http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/Disinfection\\_Nov\\_2008.pdf](http://www.cdc.gov/hicpac/pdf/guidelines/Disinfection_Nov_2008.pdf). 04.03.2015.

Rutala WA, Weber DJ. Disinfection and sterilization: an overview. Am J Infect Control 2013; 41: 2-5.

Sanchez S, McCrackin Stevenson MA, Hudson CR, Maier M, Buffington T, Dam Q, Maurer JJ. Characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolates associated with nosocomial infections in dogs. J Clin Microbiol 2002; 40: 3586-95.

Sanderson AR, Leid JG, Hunsaker D. Bacterial biofilms on the sinus mucosa of human subjects with chronic rhinosinusitis. Laryngoscope 2006; 116: 1121-6.

Schulze G. Untersuchung zur Repräsentanz der RODAC-Abklatschtechnik. Institut für Lebensmittelhygiene Berlin: FU Berlin 2000: <https://bib.vetmed.fu-berlin.de/pubdb/pub/15607/>. 8.7.2015.

Sexton JD, Tanner BD, Maxwell SL, Gerba CP. Reduction in the microbial load on high-touch surfaces in hospital rooms by treatment with a portable saturated steam vapor disinfection system. Am J Infect Control 2011; 39: 655-62.

Shaughnessy MK, Micielli RL, DePestel DD, Arndt J, Strachan CL, Welch KB, Chenoweth CE. Evaluation of hospital room assignment and acquisition of *Clostridium difficile* infection. Infect Control Hosp Epidemiol 2011; 32: 201-6.

Sidjabat HE, Townsend KM, Lorentzen M, Gobius KS, Fegan N, Chin JJ, Bettelheim KA, Hanson ND, Bensink JC, Trott DJ. Emergence and spread of two distinct clonal groups of multidrug-resistant *Escherichia coli* in a veterinary teaching hospital in Australia. J Med Microbiol 2006; 55: 1125-34.

Song L, Wu J, Xi C. Biofilms on environmental surfaces: evaluation of the disinfection efficacy of a novel steam vapor system. Am J Infect Control 2012; 40: 926-30.

Spoering AL, Lewis K. Biofilms and planktonic cells of *Pseudomonas aeruginosa* have similar resistance to killing by antimicrobials. J Bacteriol 2001; 183: 6746-51.

Steuer W, Schubert F (2007) Leitfaden der Desinfektion, Sterilisation und Entwesung. Behr's Verlag, Hamburg. 1-445

Stiefel U, Cadnum JL, Eckstein BC, Guerrero DM, Tima MA, Donskey CJ. Contamination of hands with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* after contact with environmental surfaces and after contact with the skin of colonized patients. Infect Control Hosp Epidemiol 2011; 32: 185-7.

Stolle I, Prenger-Berninghoff E, Stamm I, Scheufen S, Hassdenteufel E, Guenther S, Bethe A, Pfeifer Y, Ewers C. Emergence of OXA-48 carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in dogs. J Antimicrob Chemother 2013; 68: 2802-8.

Stull JW, Weese JS. Hospital-Associated Infections in Small Animal Practice. Vet Clin North Am Small Anim Pract 2015; 45: 217-33.



Sutherland IW. The biofilm matrix--an immobilized but dynamic microbial environment. Trends Microbiol 2001; 9: 222-7.

Takeo Y, Oie S, Kamiya A, Konishi H, Nakazawa T. Efficacy of disinfectants against biofilm cells of *Pseudomonas aeruginosa*. Microbios 1994; 79: 19-26.

Tanner BD. Reduction in infection risk through treatment of microbially contaminated surfaces with a novel, portable, saturated steam vapor disinfection system. Am J Infect Control 2009; 37: 20-7.

Tenke P, Koves B, Nagy K, Hultgren SJ, Mendling W, Wullt B, Grabe M, Wagenlehner FM, Cek M, Pickard R, Botto H, Naber KG, Bjerklund Johansen TE. Update on biofilm infections in the urinary tract. World J Urol 2012; 30: 51-7.

Teunis PF, Moe CL, Liu P, Miller SE, Lindesmith L, Baric RS, Le Pendu J, Calderon RL. Norwalk virus: how infectious is it? J Med Virol 2008; 80: 1468-76.

TMF - Technologie- und Methodenplattform für die vernetzte medizinische Forschung e.V. Informationen zur Zoonosenforschung. 2016: <http://www.zoonosen.net>. 08.02.2016.

Tornero E, Morata L, Martinez-Pastor JC, Bori G, Mensa J, Soriano A. Prosthetic joint infections due to methicillin-resistant and methicillin-susceptible staphylococci treated with open debridement and retention of the prosthesis. Rev Esp Quimioter 2013; 26: 353-9.

Trampuz A, Zimmerli W. Prosthetic joint infections: update in diagnosis and treatment. Swiss Med Wkly 2005; 135: 243-51.

van Duijkeren E, Kamphuis M, van der Mije IC, Laarhoven LM, Duim B, Wagenaar JA, Houwers DJ. Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* between infected dogs and cats and contact pets, humans and

the environment in households and veterinary clinics. *Vet Microbiol* 2011; 150: 338-43.

Verbund für Angewandte Hygiene (VAH) e.V. Desinfektionsmittel - Liste des VAH. Bonn: Verbund für Angewandte Hygiene 2014: [http://www.ihph.de/vah-online/uploads/PDF/vorwort\\_deutsch\\_mhp.pdf](http://www.ihph.de/vah-online/uploads/PDF/vorwort_deutsch_mhp.pdf). 23.03.2015.

Vickery K, Deva A, Jacombs A, Allan J, Valente P, Gosbell IB. Presence of biofilm containing viable multiresistant organisms despite terminal cleaning on clinical surfaces in an intensive care unit. *J Hosp Infect* 2012; 80: 52-5.

Vyas KS, Wong LK. Detection of Biofilm in Wounds as an Early Indicator for Risk for Tissue Infection and Wound Chronicity. *Ann Plast Surg* 2015: 1-5.

Walther B, Wieler LH, Friedrich AW, Hanssen AM, Kohn B, Brunnberg L, Lubke-Becker A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from small and exotic animals at a university hospital during routine microbiological examinations. *Vet Microbiol* 2008; 127: 171-8.

Weber DJ, Anderson D, Rutala WA. The role of the surface environment in healthcare-associated infections. *Curr Opin Infect Dis* 2013; 26: 338-44.

Wedley AL, Maddox TW, Westgarth C, Coyne KP, Pinchbeck GL, Williams NJ, Dawson S. Prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in dogs in a cross-sectional, community-based study. *Vet Rec* 2011; 168: 354.

Weese JS, Armstrong J. Outbreak of *Clostridium difficile*-associated disease in a small animal veterinary teaching hospital. *J Vet Intern Med* 2003; 17: 813-6.

Weese JS, van Duijkeren E. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Vet Microbiol* 2010; 140: 418-29.

---

Weese JS, Lowe T, Walker M. Use of fluorescent tagging for assessment of environmental cleaning and disinfection in a veterinary hospital. *Vet Rec* 2012; 171: 217.

Weinstein RA. Epidemiology and control of nosocomial infections in adult intensive care units. *Am J Med* 1991; 91: 179-84.

White LF, Dancer SJ, Robertson C. A microbiological evaluation of hospital cleaning methods. *Int J Environ Health Res* 2007; 17: 285-95.

Wood CL, Tanner BD, Higgins LA, Dennis JS, Luempert LG, 3rd. Effectiveness of a steam cleaning unit for disinfection in a veterinary hospital. *Am J Vet Res* 2014; 75: 1083-8.

Zordan S, Prenger-Berninghoff E, Weiss R, van der Reijden T, van den Broek P, Baljer G, Dijkshoorn L. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* in veterinary clinics, Germany. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 1751-4.

## IX. ANHANG

### 1. Abbildungsverzeichnis

| Abb. | Titel   | Seitenzahl |
|------|---|------------|
| 1    | Kleiner Fensterwischeraufsatz (Firma Asum Favorit® GmbH)  | 34         |
| 2    | Unterschiedliche Testflächen (von links nach rechts: PVC, Linoleum, Fliese) mit über Nacht getrockneter Silikonrandbegrenzung   | 36         |
| 3    | Schema der angefertigten Glasplatten (angegebene Maße in mm)  | 37         |
| 4    | Angefertigte Glasplatte mit eingesetzten Polyvinylchlorid-Testflächen   | 37         |
| 5    | <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> (A) und <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (B) auf Difco™ Columbia Blood Agar Base Platten ohne Blutzusatz (Becton, Dickinson and Company®) | 38         |
| 6    | <i>Microsporum canis</i> auf Sabouraud-2 % Glukose-Agarplatten (Merck Millipore®)   | 38         |
| 7    | Demonstration eines Bedampfungsvorganges  | 47         |
| 8    | Unterschiedliche mit <i>Sp</i> kontaminierte Keimträger mit Silikonbegrenzung (von links nach rechts: Fliese, PVC, Linoleum)  | 49         |
| 9    | A: Zellkulturflasche mit reifen <i>Microsporum canis</i> (Mc) Kolonien auf Sabouraud-2 % Glukose-Agar; B: Mikroskopische Darstellung von Mc Sporen angefärbt mit Methylenblau | 50         |
| 10   | Beispiele für kontaminierte Contact Slides (Contact Slide 9, Liofilchem®) nach 48 h Bebrütung   | 52         |
| 11   | Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s) Oberflächen beimpft mit <i>Sp</i> (McF 4.0) aufgeteilt nach Keimträgern             | 56         |
| 12   | Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s, 3 s) Oberflächen beimpft mit <i>Sp</i> (McF 1.0) aufgeteilt nach Keimträgern        | 59         |
| 13   | Logarithmische Darstellung der medianen logarithmischen Reduktion nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern beimpft mit <i>Sp</i> (McF 1.0)                | 60         |
| 14   | Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Oberflächen beimpft mit <i>Sp</i> (McF 1.0) nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern (absolute Werte)        | 61         |
| 15   | Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s, 3 s) Oberflächen beimpft mit <i>Sp</i> (McF 4.0) aufgeteilt nach Keimträgern        | 63         |
| 16   | Logarithmische Darstellung der medianen logarithmischen Reduktion nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern beimpft mit <i>Sp</i> (McF 4.0)                | 63         |
| 17   | Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Oberflächen beimpft mit <i>Sp</i> (McF 4.0) nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern (absolute Werte)        | 64 - 65    |

| <b>Abb.</b> | <b>Titel</b>  | <b>Seitenzahl</b> |
|-------------|---|-------------------|
| 18          | Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s) Oberflächen beimpft mit <i>Pa</i> (McF 4.0) aufgeteilt nach Keimträgern                       | 66                |
| 19          | Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Oberflächen beimpft mit <i>Pa</i> (McF 4.0) nach 1 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern (absolute Werte)                          | 67                |
| 20          | Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s, 3 s) Oberflächen mit über Nacht generiertem Biofilm ( <i>Sp</i> ) aufgeteilt nach Keimträgern | 68                |
| 21          | Logarithmische Darstellung der medianen logarithmischen Reduktion nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern mit über Nacht generiertem Biofilm ( <i>Sp</i> )         | 69                |
| 22          | Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Oberflächen mit über Nacht generiertem Biofilm ( <i>Sp</i> ) nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern (absolute Werte) | 70                |
| 23          | Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s, 3 s) Oberflächen mit über Nacht generiertem Biofilm ( <i>Pa</i> ) aufgeteilt nach Keimträgern | 72                |
| 24          | Logarithmische Darstellung der medianen logarithmischen Reduktion nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern mit über Nacht generiertem Biofilm ( <i>Pa</i> )         | 73                |
| 25          | Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Oberflächen mit über Nacht generiertem Biofilm ( <i>Pa</i> ) nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern (absolute Werte) | 73-74             |
| 26          | Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s, 3 s) Oberflächen beimpft mit <i>Mc</i> Sporen aufgeteilt nach Keimträgern                     | 75                |
| 27          | Logarithmische Darstellung der medianen logarithmischen Reduktion nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern beimpft mit <i>Mc</i> Sporen                             | 76                |
| 28          | Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Oberflächen beimpft mit <i>Mc</i> Sporen nach 1 s und 3 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach Keimträgern (absolute Werte)                     | 77                |
| 29          | Logarithmische Darstellung der Keimzahlen von nicht bedampften (0 s) und bedampften (1 s) Contact Slides aufgeteilt nach Lokalisationen   | 79                |
| 30          | Darstellung der medianen prozentualen Reduktion in % nach 1 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach unterschiedlichen Lokalisationen  | 80                |
| 31          | Darstellung der Anzahl erreichter Scores von Contact Slides nach 1 s Bedampfungszeit aufgeteilt nach unterschiedlichen Lokalisationen (absolute Werte)                                  | 81                |
| 32          | Prozentuales Vorkommen von Mikroorganismen auf allen untersuchten Oberflächen (PVC-Fußboden, Mikroskopiertisch, Behandlungstisch) ausgewertet mit MALDI-TOF MS                          | 81                |

## 2. Rohdaten

### 2.1 Vorversuche

| Keim      | Konz. | Keimträger | Bedampfungszeit | Nr. | CFU/Inokulum | CFU/Keimträger |
|-----------|-------|------------|-----------------|-----|--------------|----------------|
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 1   | 5,85E+07     | 3,45E+07       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 1   | 5,85E+07     | 2,93E+07       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 1   | 5,85E+07     | 3,38E+07       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 2   | 1,75E+07     | 3,30E+07       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 2   | 1,75E+07     | 1,80E+07       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 2   | 1,75E+07     | 1,65E+07       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 3   | 9,13E+06     | 5,06E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 3   | 9,13E+06     | 3,98E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 3   | 9,13E+06     | 4,52E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 4   | 5,75E+06     | 2,10E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 4   | 5,75E+06     | 1,25E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 4   | 5,75E+06     | 5,25E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 5   | 5,75E+06     | 3,12E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 5   | 5,75E+06     | 5,15E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 5   | 5,75E+06     | 4,80E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 6   | 5,75E+06     | 4,19E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 6   | 5,75E+06     | 3,66E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 6   | 5,75E+06     | 4,79E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 7   | 7,88E+06     | 8,85E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 7   | 7,88E+06     | 1,17E+07       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 7   | 7,88E+06     | 7,65E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 8   | 7,88E+06     | 6,98E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 8   | 7,88E+06     | 3,39E+05       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 8   | 7,88E+06     | 8,22E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 9   | 7,88E+06     | 4,92E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 9   | 7,88E+06     | 6,82E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 9   | 7,88E+06     | 1,54E+06       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 10  | 4,00E+07     | 3,15E+05       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 10  | 4,00E+07     | 4,80E+04       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 11  | 1,78E+07     | 9,00E+04       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 11  | 1,78E+07     | 8,85E+04       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 11  | 1,78E+07     | 1,66E+05       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 12  | 7,88E+06     | 7,80E+05       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 12  | 7,88E+06     | 1,35E+05       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 12  | 7,88E+06     | 7,10E+05       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 13  | 9,50E+06     | 2,68E+04       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 13  | 9,50E+06     | 5,90E+04       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 13  | 9,50E+06     | 2,50E+04       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 14  | 9,50E+06     | 4,26E+05       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 14  | 9,50E+06     | 6,82E+05       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 14  | 9,50E+06     | 2,18E+05       |

| Keim      | Konz. | Keimträger | Bedampfungszeit | Nr. | CFU/Inokulum | CFU/Keimträger |
|-----------|-------|------------|-----------------|-----|--------------|----------------|
| <i>Pa</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 15  | 9,50E+06     | 1,18E+06       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 15  | 9,50E+06     | 1,15E+06       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 15  | 9,50E+06     | 1,48E+06       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 16  | 9,38E+06     | 1,32E+04       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 16  | 9,38E+06     | 8,60E+03       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 16  | 9,38E+06     | 1,30E+04       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 17  | 9,38E+06     | 1,70E+05       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 17  | 9,38E+06     | 4,10E+05       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 17  | 9,38E+06     | 1,38E+05       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 18  | 9,38E+06     | 4,27E+05       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 18  | 9,38E+06     | 2,79E+05       |
| <i>Pa</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 18  | 9,38E+06     | 4,97E+05       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 19  | 1,19E+07     | 3,90E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 1 s             | 19  | 1,19E+07     | 2,00E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 1 s             | 19  | 1,19E+07     | 2,00E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 1 s             | 19  | 1,19E+07     | 2,00E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 20  | 1,19E+07     | 3,74E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 1 s             | 20  | 1,19E+07     | 1,50E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 1 s             | 20  | 1,19E+07     | 1,50E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 1 s             | 20  | 1,19E+07     | 3,00E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 21  | 1,19E+07     | 1,80E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 1 s             | 21  | 1,19E+07     | 1,50E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 1 s             | 21  | 1,19E+07     | 1,50E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 1 s             | 21  | 1,19E+07     | 1,50E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 22  | 9,25E+06     | 5,10E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 1 s             | 22  | 9,25E+06     | 2,00E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 1 s             | 22  | 9,25E+06     | 2,00E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 1 s             | 22  | 9,25E+06     | 2,00E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 23  | 9,25E+06     | 4,38E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 1 s             | 23  | 9,25E+06     | 1,50E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 1 s             | 23  | 9,25E+06     | 1,43E+04       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 1 s             | 23  | 9,25E+06     | 1,50E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 24  | 9,25E+06     | 1,40E+05       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 1 s             | 24  | 9,25E+06     | 1,50E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 1 s             | 24  | 9,25E+06     | 1,50E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 1 s             | 24  | 9,25E+06     | 3,00E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s             | 25  | 1,30E+07     | 6,68E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 1 s             | 25  | 1,30E+07     | 2,00E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 1 s             | 25  | 1,30E+07     | 2,00E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 0 s             | 26  | 1,30E+07     | 4,28E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 1 s             | 26  | 1,30E+07     | 5,10E+03       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 1 s             | 26  | 1,30E+07     | 3,00E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s             | 27  | 1,30E+07     | 2,82E+06       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 1 s             | 27  | 1,30E+07     | 1,50E+02       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 1 s             | 27  | 1,30E+07     | 1,50E+02       |

| Keim      | Konz.   | Keimträger | Bedampfungszeit | Nr. | CFU/Inokulum | CFU/Keimträger |
|-----------|---------|------------|-----------------|-----|--------------|----------------|
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s             | 28  |              | 2,28E+07       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s             | 28  |              | 4,48E+07       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s             | 28  |              | 1,40E+07       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 0 s             | 29  |              | 9,00E+07       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 0 s             | 29  |              | 3,15E+06       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 0 s             | 29  |              | 2,64E+06       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s             | 30  |              | 4,20E+05       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s             | 30  |              | 4,08E+06       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s             | 30  |              | 2,28E+06       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s             | 31  |              | 6,72E+06       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s             | 31  |              | 1,64E+07       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s             | 31  |              | 1,20E+07       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s             | 32  |              | 5,70E+06       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s             | 32  |              | 1,35E+07       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s             | 32  |              | 8,10E+06       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s             | 33  | 3,15E+05     | 1,00E+02       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s             | 33  | 3,15E+05     | 5,00E+02       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s             | 33  | 3,15E+05     | 2,60E+03       |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 0 s             | 34  | 3,15E+05     | 1,10E+03       |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 0 s             | 34  | 3,15E+05     | 5,00E+02       |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 0 s             | 34  | 3,15E+05     | 8,80E+04       |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 0 s             | 35  | 3,15E+05     | 4,60E+04       |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 0 s             | 35  | 3,15E+05     | 1,00E+05       |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 0 s             | 35  | 3,15E+05     | 9,30E+03       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s             | 36  | 5,80E+05     | 6,00E+02       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s             | 36  | 5,80E+05     | 1,00E+02       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s             | 36  | 5,80E+05     | 1,00E+02       |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 0 s             | 37  | 5,80E+05     | 5,10E+03       |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 0 s             | 37  | 5,80E+05     | 6,50E+03       |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 0 s             | 37  | 5,80E+05     | 2,00E+03       |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 0 s             | 38  | 5,80E+05     | 1,80E+03       |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 0 s             | 38  | 5,80E+05     | 1,00E+02       |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 0 s             | 38  | 5,80E+05     | 1,40E+03       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s             | 39  | 3,55E+05     | 2,00E+02       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s             | 39  | 3,55E+05     | 5,00E+02       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s             | 39  | 3,55E+05     | 2,40E+03       |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 0 s             | 40  | 3,55E+05     | 2,60E+03       |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 0 s             | 40  | 3,55E+05     | 5,00E+02       |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 0 s             | 40  | 3,55E+05     | 6,40E+03       |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 0 s             | 41  | 3,55E+05     | 6,30E+03       |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 0 s             | 41  | 3,55E+05     | 3,30E+03       |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 0 s             | 41  | 3,55E+05     | 3,00E+02       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s             | 42  | 2,80E+06     | 6,00E+03       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s             | 42  | 2,80E+06     | 2,80E+03       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s             | 42  | 2,80E+06     | 1,22E+05       |



| Keim | Konz. | Keimträger | Bedampfungszeit | Nr. | CFU/Inokulum | CFU/Keimträger |
|------|-------|------------|-----------------|-----|--------------|----------------|
| Mc   |       | PVC        | 0 s             | 43  | 2,80E+06     | 3,40E+03       |
| Mc   |       | PVC        | 0 s             | 43  | 2,80E+06     | 1,00E+04       |
| Mc   |       | PVC        | 0 s             | 43  | 2,80E+06     | 1,00E+03       |
| Mc   |       | Linoleum   | 0 s             | 44  | 2,80E+06     | 6,20E+04       |
| Mc   |       | Linoleum   | 0 s             | 44  | 2,80E+06     | 1,14E+04       |
| Mc   |       | Linoleum   | 0 s             | 44  | 2,80E+06     | 7,80E+04       |
| Mc   |       | Fliese     | 0 s             | 45  | 1,40E+06     | 4,03E+04       |
| Mc   |       | Fliese     | 0 s             | 45  | 1,40E+06     | 3,60E+03       |
| Mc   |       | Fliese     | 0 s             | 45  | 1,40E+06     | 3,61E+04       |
| Mc   |       | PVC        | 0 s             | 46  | 1,40E+06     | 2,40E+02       |
| Mc   |       | PVC        | 0 s             | 46  | 1,40E+06     | 2,40E+02       |
| Mc   |       | PVC        | 0 s             | 46  | 1,40E+06     | 3,80E+02       |
| Mc   |       | Linoleum   | 0 s             | 47  | 1,40E+06     | 3,91E+04       |
| Mc   |       | Linoleum   | 0 s             | 47  | 1,40E+06     | 1,08E+04       |
| Mc   |       | Linoleum   | 0 s             | 47  | 1,40E+06     | 6,00E+04       |
| Mc   |       | Fliese     | 0 s             | 48  | 1,08E+06     | 1,20E+02       |
| Mc   |       | Fliese     | 0 s             | 48  | 1,08E+06     | 1,60E+02       |
| Mc   |       | Fliese     | 0 s             | 48  | 1,08E+06     | 1,04E+04       |
| Mc   |       | PVC        | 0 s             | 49  | 1,08E+06     | 5,60E+03       |
| Mc   |       | PVC        | 0 s             | 49  | 1,08E+06     | 3,80E+03       |
| Mc   |       | PVC        | 0 s             | 49  | 1,08E+06     | 2,20E+02       |
| Mc   |       | Linoleum   | 0 s             | 50  | 1,08E+06     | 9,40E+03       |
| Mc   |       | Linoleum   | 0 s             | 50  | 1,08E+06     | 1,02E+04       |
| Mc   |       | Linoleum   | 0 s             | 50  | 1,08E+06     | 9,00E+03       |
| Mc   |       | Fliese     | 0 s             | 51  | 2,80E+06     | 8,20E+03       |
| Mc   |       | Fliese     | 1 s             | 51  | 2,80E+06     | 2,40E+01       |
| Mc   |       | Fliese     | 1 s             | 51  | 2,80E+06     | 2,00E+00       |
| Mc   |       | Fliese     | 1 s             | 51  | 2,80E+06     | 2,00E+00       |
| Mc   |       | PVC        | 0 s             | 52  | 2,80E+06     | 3,96E+04       |
| Mc   |       | PVC        | 1 s             | 52  | 2,80E+06     | 2,00E+00       |
| Mc   |       | PVC        | 1 s             | 52  | 2,80E+06     | 2,00E+00       |
| Mc   |       | PVC        | 1 s             | 52  | 2,80E+06     | 4,20E+03       |
| Mc   |       | Linoleum   | 0 s             | 53  | 2,80E+06     | 1,88E+04       |
| Mc   |       | Linoleum   | 1 s             | 53  | 2,80E+06     | 2,00E+00       |
| Mc   |       | Linoleum   | 1 s             | 53  | 2,80E+06     | 6,00E+00       |
| Mc   |       | Linoleum   | 1 s             | 53  | 2,80E+06     | 2,00E+00       |

## 2.2 Laborstudie

| Keim | Konz. | Keimträger | Bedampfung | Tag | Nr. | CFU/Keimträger | proz. Red | log-Red. | Score |
|------|-------|------------|------------|-----|-----|----------------|-----------|----------|-------|
| Sp   | McF 1 | Fliese     | 0 s        | 1   | 1   | 1,26E+05       |           |          |       |
| Sp   | McF 1 | Fliese     | 1 s        | 1   | 2   | 2,00E+02       | 100,00%   | 2,8      | 2     |
| Sp   | McF 1 | Fliese     | 1 s        | 1   | 3   | 2,00E+02       | 100,00%   | 2,8      | 2     |
| Sp   | McF 1 | Fliese     | 1 s        | 1   | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 2,8      | 2     |

| Keim      | Konz. | Keimträger | Bedampfung | Tag | Nr. | CFU/Keimträger | proz. Red | log-Red. | Score |
|-----------|-------|------------|------------|-----|-----|----------------|-----------|----------|-------|
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 0 s        | 2   | 1   | 2,12E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 1 s        | 2   | 2   | 3,00E+02       | 100,00%   | 2,85     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 1 s        | 2   | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,15     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 1 s        | 2   | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,15     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 0 s        | 3   | 1   | 6,02E+04       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 1 s        | 3   | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,6      | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 1 s        | 3   | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,6      | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 1 s        | 3   | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,6      | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 0 s        | 4   | 1   | 1,88E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 1 s        | 4   | 2   | 2,00E+02       | 100,00%   | 2,97     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 1 s        | 4   | 3   | 2,00E+02       | 100,00%   | 2,97     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 1 s        | 4   | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 2,97     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 0 s        | 5   | 1   | 2,02E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 1 s        | 5   | 2   | 1,80E+03       | 99,00%    | 2,05     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 1 s        | 5   | 3   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3        | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 1 s        | 5   | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3        | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 0 s        | 6   | 1   | 1,78E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 1 s        | 6   | 2   | 2,00E+02       | 100,00%   | 2,95     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 1 s        | 6   | 3   | 6,00E+02       | 100,00%   | 2,47     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 0 s        | 7   | 1   | 5,10E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 1 s        | 7   | 2   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,41     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 1 s        | 7   | 3   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,41     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 1 s        | 7   | 4   | 2,60E+03       | 99,00%    | 2,29     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 0 s        | 8   | 1   | 2,30E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 1 s        | 8   | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,18     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 1 s        | 8   | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,18     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 1 s        | 8   | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,18     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 0 s        | 9   | 1   | 4,07E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 1 s        | 9   | 2   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,31     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 1 s        | 9   | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,43     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 1 s        | 9   | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,43     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 0 s        | 10  | 1   | 7,61E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 3 s        | 10  | 2   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,58     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 3 s        | 10  | 3   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,58     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 3 s        | 10  | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,58     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 0 s        | 11  | 1   | 3,89E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 3 s        | 11  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,41     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 3 s        | 11  | 3   | 1,35E+03       | 100,00%   | 2,46     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 3 s        | 11  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,41     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 0 s        | 12  | 1   | 1,38E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 3 s        | 12  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,96     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 3 s        | 12  | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,96     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 3 s        | 12  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,96     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 0 s        | 13  | 1   | 4,06E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 3 s        | 13  | 2   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,31     | 1     |

| Keim      | Konz. | Keimträger | Bedampfung | Tag | Nr. | CFU/Keimträger | proz. Red | log-Red. | Score |
|-----------|-------|------------|------------|-----|-----|----------------|-----------|----------|-------|
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 3 s        | 13  | 3   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,31     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 3 s        | 13  | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,31     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 0 s        | 14  | 1   | 8,02E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 3 s        | 14  | 2   | 3,00E+02       | 100,00%   | 3,43     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 3 s        | 14  | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,73     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 3 s        | 14  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,73     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 0 s        | 15  | 1   | 1,02E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 3 s        | 15  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,83     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 3 s        | 15  | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,83     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 3 s        | 15  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,83     | 2     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 0 s        | 16  | 1   | 4,66E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 3 s        | 16  | 2   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,37     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 3 s        | 16  | 3   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,37     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Fliese     | 3 s        | 16  | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,37     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 0 s        | 17  | 1   | 5,48E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 3 s        | 17  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,56     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 3 s        | 17  | 3   | 4,50E+02       | 100,00%   | 3,09     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | PVC        | 3 s        | 17  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,56     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 0 s        | 18  | 1   | 1,94E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 3 s        | 18  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,11     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 3 s        | 18  | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,11     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 1 | Linoleum   | 3 s        | 18  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,11     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s        | 19  | 1   | 4,06E+06       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 1 s        | 19  | 2   | 2,00E+02       | 100,00%   | 4,31     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 1 s        | 19  | 3   | 2,00E+02       | 100,00%   | 4,31     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 1 s        | 19  | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 4,31     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 0 s        | 20  | 1   | 4,19E+06       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 1 s        | 20  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,45     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 1 s        | 20  | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,45     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 1 s        | 20  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,45     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s        | 21  | 1   | 3,42E+06       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 1 s        | 21  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,36     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 1 s        | 21  | 3   | 1,50E+03       | 100,00%   | 3,36     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 1 s        | 21  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,36     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 0 s        | 22  | 1   | 2,16E+06       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 1 s        | 22  | 2   | 1,20E+03       | 100,00%   | 3,26     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 1 s        | 22  | 3   | 4,00E+02       | 100,00%   | 3,73     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Fliese     | 1 s        | 22  | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 4,03     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 0 s        | 23  | 1   | 2,94E+06       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 1 s        | 23  | 2   | 6,00E+02       | 100,00%   | 3,69     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 1 s        | 23  | 3   | 1,05E+03       | 100,00%   | 3,45     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | PVC        | 1 s        | 23  | 4   | 3,00E+02       | 100,00%   | 3,99     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 0 s        | 24  | 1   | 2,70E+06       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 1 s        | 24  | 2   | 1,95E+03       | 100,00%   | 3,14     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4 | Linoleum   | 1 s        | 24  | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,26     | 1     |

| Keim | Konz. | Keimträger | Bedampfung | Tag | Nr. | CFU/Keimträger | proz. Red | log-Red. | Score |
|------|-------|------------|------------|-----|-----|----------------|-----------|----------|-------|
| Sp   | McF 4 | Linoleum   | 1 s        | 24  | 4   | 6,00E+02       | 100,00%   | 3,65     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 0 s        | 25  | 1   | 1,96E+06       |           |          |       |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 1 s        | 25  | 2   | 1,20E+03       | 100,00%   | 3,21     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 1 s        | 25  | 3   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,99     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 1 s        | 25  | 4   | 1,30E+04       | 99,00%    | 2,18     | 2     |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 0 s        | 26  | 1   | 4,16E+06       |           |          |       |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 1 s        | 26  | 2   | 3,00E+02       | 100,00%   | 4,14     | 1     |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 1 s        | 26  | 3   | 1,65E+03       | 100,00%   | 3,4      | 1     |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 1 s        | 26  | 4   | 1,13E+04       | 100,00%   | 2,57     | 2     |
| Sp   | McF 4 | Linoleum   | 0 s        | 27  | 1   | 3,83E+06       |           |          |       |
| Sp   | McF 4 | Linoleum   | 1 s        | 27  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,41     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Linoleum   | 1 s        | 27  | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,41     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Linoleum   | 1 s        | 27  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,41     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 0 s        | 28  | 1   | 3,64E+06       |           |          |       |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 3 s        | 28  | 2   | 3,40E+03       | 100,00%   | 3,03     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 3 s        | 28  | 3   | 2,00E+02       | 100,00%   | 4,26     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 3 s        | 28  | 4   | 4,00E+02       | 100,00%   | 3,96     | 1     |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 0 s        | 29  | 1   | 2,30E+06       |           |          |       |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 3 s        | 29  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,18     | 1     |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 3 s        | 29  | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,18     | 1     |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 3 s        | 29  | 4   | 9,00E+02       | 100,00%   | 3,41     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Linoleum   | 0 s        | 30  | 1   | 8,40E+05       |           |          |       |
| Sp   | McF 4 | Linoleum   | 3 s        | 30  | 2   | 7,50E+02       | 100,00%   | 3,05     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Linoleum   | 3 s        | 30  | 3   | 1,05E+03       | 100,00%   | 2,9      | 2     |
| Sp   | McF 4 | Linoleum   | 3 s        | 30  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 3,75     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 0 s        | 31  | 1   | 1,64E+06       |           |          |       |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 3 s        | 31  | 2   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,91     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 3 s        | 31  | 3   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,91     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 3 s        | 31  | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,91     | 1     |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 0 s        | 32  | 1   | 3,24E+06       |           |          |       |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 3 s        | 32  | 2   | 1,20E+03       | 100,00%   | 3,43     | 1     |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 3 s        | 32  | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,33     | 1     |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 3 s        | 32  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,33     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Linoleum   | 0 s        | 33  | 1   | 1,71E+06       |           |          |       |
| Sp   | McF 4 | Linoleum   | 3 s        | 33  | 2   | 4,50E+03       | 100,00%   | 2,58     | 2     |
| Sp   | McF 4 | Linoleum   | 3 s        | 33  | 3   | 3,00E+02       | 100,00%   | 3,76     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Linoleum   | 3 s        | 33  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,06     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 0 s        | 34  | 1   | 5,88E+06       |           |          |       |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 3 s        | 34  | 2   | 2,00E+02       | 100,00%   | 4,47     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 3 s        | 34  | 3   | 2,00E+02       | 100,00%   | 4,47     | 1     |
| Sp   | McF 4 | Fliese     | 3 s        | 34  | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 4,47     | 1     |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 0 s        | 35  | 1   | 5,25E+06       |           |          |       |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 3 s        | 35  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,54     | 1     |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 3 s        | 35  | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,54     | 1     |
| Sp   | McF 4 | PVC        | 3 s        | 35  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,54     | 1     |

| Keim      | Konz.   | Keimträger | Bedampfung | Tag | Nr. | CFU/Keimträger | proz. Red | log-Red. | Score |
|-----------|---------|------------|------------|-----|-----|----------------|-----------|----------|-------|
| <i>Sp</i> | McF 4   | Linoleum   | 0 s        | 36  | 1   | 4,28E+06       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | McF 4   | Linoleum   | 3 s        | 36  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,45     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4   | Linoleum   | 3 s        | 36  | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,45     | 1     |
| <i>Sp</i> | McF 4   | Linoleum   | 3 s        | 36  | 4   | 3,00E+02       | 100,00%   | 4,15     | 1     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Fliese     | 0 s        | 37  | 1   | 6,60E+03       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Fliese     | 1 s        | 37  | 2   | 2,00E+02       | 97,00%    | 1,52     | 3     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Fliese     | 1 s        | 37  | 3   | 2,00E+02       | 97,00%    | 1,52     | 3     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Fliese     | 1 s        | 37  | 4   | 2,00E+02       | 97,00%    | 1,52     | 3     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | PVC        | 0 s        | 38  | 1   | 2,96E+04       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | McF 4   | PVC        | 1 s        | 38  | 2   | 1,50E+02       | 99,00%    | 2,29     | 2     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | PVC        | 1 s        | 38  | 3   | 1,50E+02       | 99,00%    | 2,29     | 2     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | PVC        | 1 s        | 38  | 4   | 1,50E+02       | 99,00%    | 2,29     | 2     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Linoleum   | 0 s        | 39  | 1   | 3,86E+04       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Linoleum   | 1 s        | 39  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,41     | 2     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Linoleum   | 1 s        | 39  | 3   | 2,00E+02       | 99,00%    | 2,28     | 2     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Linoleum   | 1 s        | 39  | 4   | 2,00E+02       | 99,00%    | 2,28     | 2     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Fliese     | 0 s        | 40  | 1   | 1,40E+03       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Fliese     | 1 s        | 40  | 2   | 2,00E+02       | 86,00%    | 0,85     | 4     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Fliese     | 1 s        | 40  | 3   | 2,00E+02       | 86,00%    | 0,85     | 4     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Fliese     | 1 s        | 40  | 4   | 2,00E+02       | 86,00%    | 0,85     | 4     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | PVC        | 0 s        | 41  | 1   | 1,82E+04       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | McF 4   | PVC        | 1 s        | 41  | 2   | 1,50E+02       | 99,00%    | 2,08     | 2     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | PVC        | 1 s        | 41  | 3   | 1,50E+02       | 99,00%    | 2,08     | 2     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | PVC        | 1 s        | 41  | 4   | 1,50E+02       | 99,00%    | 2,08     | 2     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Linoleum   | 0 s        | 42  | 1   | 3,75E+03       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Linoleum   | 1 s        | 42  | 2   | 1,50E+02       | 96,00%    | 1,4      | 3     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Linoleum   | 1 s        | 42  | 3   | 1,50E+02       | 96,00%    | 1,4      | 3     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Linoleum   | 1 s        | 42  | 4   | 1,50E+02       | 96,00%    | 1,4      | 3     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Fliese     | 0 s        | 43  | 1   | 3,40E+03       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Fliese     | 1 s        | 43  | 2   | 2,00E+02       | 94,00%    | 1,23     | 3     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Fliese     | 1 s        | 43  | 3   | 2,00E+02       | 94,00%    | 1,23     | 3     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Fliese     | 1 s        | 43  | 4   | 2,00E+02       | 94,00%    | 1,23     | 3     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | PVC        | 0 s        | 44  | 1   | 8,70E+04       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | McF 4   | PVC        | 1 s        | 44  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,76     | 2     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | PVC        | 1 s        | 44  | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,76     | 2     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | PVC        | 1 s        | 44  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,76     | 2     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Linoleum   | 0 s        | 45  | 1   | 4,69E+04       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Linoleum   | 1 s        | 45  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,49     | 2     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Linoleum   | 1 s        | 45  | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 2,49     | 2     |
| <i>Pa</i> | McF 4   | Linoleum   | 1 s        | 45  | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 2,37     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s        | 46  | 1   | 2,36E+07       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 46  | 2   | 3,64E+05       | 98,00%    | 1,81     | 3     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 46  | 3   | 2,32E+05       | 99,00%    | 2,01     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 46  | 4   | 7,20E+03       | 100,00%   | 3,52     | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 0 s        | 47  | 1   | 4,35E+05       |           |          |       |

| Keim      | Konz.   | Keimträger | Bedampfung | Tag | Nr. | CFU/Keimträger | proz. Red | log-Red. | Score |
|-----------|---------|------------|------------|-----|-----|----------------|-----------|----------|-------|
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 47  | 2   | 4,02E+04       | 91,00%    | 1,03     | 3     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 47  | 3   | 2,40E+03       | 99,00%    | 2,26     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 47  | 4   | 1,95E+04       | 96,00%    | 1,35     | 3     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s        | 48  | 1   | 3,24E+06       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 48  | 2   | 3,15E+04       | 99,00%    | 2,01     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 48  | 3   | 1,86E+04       | 99,00%    | 2,24     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 48  | 4   | 1,65E+05       | 95,00%    | 1,29     | 3     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s        | 49  | 1   | 6,82E+07       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 49  | 2   | 4,80E+03       | 100,00%   | 4,15     | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 49  | 3   | 2,08E+04       | 100,00%   | 3,52     | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 49  | 4   | 1,20E+03       | 100,00%   | 4,75     | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 0 s        | 50  | 1   | 6,62E+06       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 50  | 2   | 4,17E+05       | 94,00%    | 1,2      | 3     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 50  | 3   | 5,00E+04       | 99,00%    | 2,12     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 50  | 4   | 9,30E+03       | 100,00%   | 2,85     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s        | 51  | 1   | 5,99E+06       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 51  | 2   | 3,39E+04       | 99,00%    | 2,25     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 51  | 3   | 9,90E+03       | 100,00%   | 2,78     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 51  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,6      | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s        | 52  | 1   | 1,80E+07       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 52  | 2   | 6,33E+04       | 100,00%   | 2,45     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 52  | 3   | 3,20E+04       | 100,00%   | 2,75     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 52  | 4   | 6,20E+05       | 97,00%    | 1,46     | 3     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 0 s        | 53  | 1   | 6,54E+06       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 53  | 2   | 2,40E+03       | 100,00%   | 3,44     | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 53  | 3   | 9,75E+05       | 85,00%    | 0,83     | 4     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 53  | 4   | 3,83E+05       | 94,00%    | 1,23     | 3     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s        | 54  | 1   | 1,32E+06       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 54  | 2   | 1,10E+04       | 99,00%    | 2,08     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 54  | 3   | 3,78E+04       | 97,00%    | 1,54     | 3     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 54  | 4   | 8,78E+04       | 93,00%    | 1,18     | 3     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s        | 55  | 1   | 9,60E+06       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 55  | 2   | 1,76E+06       | 82,00%    | 0,74     | 4     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 55  | 3   | 3,80E+03       | 100,00%   | 3,4      | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 55  | 4   | 4,00E+02       | 100,00%   | 4,38     | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 0 s        | 56  | 1   | 1,11E+06       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 56  | 2   | 6,75E+03       | 99,00%    | 2,22     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 56  | 3   | 6,45E+05       | 42,00%    | 0,24     | 4     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 56  | 4   | 3,00E+02       | 100,00%   | 3,57     | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s        | 57  | 1   | 1,43E+07       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 57  | 2   | 3,80E+04       | 100,00%   | 2,57     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 57  | 3   | 2,19E+04       | 100,00%   | 2,81     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 57  | 4   | 1,35E+03       | 100,00%   | 4,02     | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s        | 58  | 1   | 1,68E+07       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 58  | 2   | 9,22E+04       | 99,00%    | 2,26     | 2     |

| Keim      | Konz.   | Keimträger | Bedampfung | Tag | Nr. | CFU/Keimträger | proz. Red | log-Red. | Score |
|-----------|---------|------------|------------|-----|-----|----------------|-----------|----------|-------|
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 58  | 3   | 4,88E+04       | 100,00%   | 2,54     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 58  | 4   | 1,36E+04       | 100,00%   | 3,09     | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 0 s        | 59  | 1   | 5,46E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 59  | 2   | 2,00E+02       | 100,00%   | 3,44     | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 59  | 3   | 1,60E+03       | 100,00%   | 2,53     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 59  | 4   | 4,68E+05       | 14,00%    | 0,07     | 4     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s        | 60  | 1   | 2,60E+07       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 60  | 2   | 8,54E+04       | 100,00%   | 2,48     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 60  | 3   | 9,60E+04       | 100,00%   | 2,43     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 60  | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 5,11     | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s        | 61  | 1   | 1,78E+07       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 61  | 2   | 3,28E+04       | 100,00%   | 2,73     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 61  | 3   | 1,06E+06       | 94,00%    | 1,22     | 3     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 61  | 4   | 6,00E+02       | 100,00%   | 4,47     | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 0 s        | 62  | 1   | 2,68E+05       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 62  | 2   | 4,00E+02       | 100,00%   | 2,83     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 62  | 3   | 4,00E+02       | 100,00%   | 2,83     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 62  | 4   | 4,62E+04       | 83,00%    | 0,76     | 4     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s        | 63  | 1   | 2,75E+07       |           |          |       |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 63  | 2   | 2,10E+04       | 100,00%   | 3,12     | 1     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 63  | 3   | 2,04E+05       | 99,00%    | 2,13     | 2     |
| <i>Sp</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 63  | 4   | 3,02E+04       | 100,00%   | 2,96     | 2     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s        | 64  | 1   | 6,48E+07       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 64  | 2   | 4,00E+05       | 99,00%    | 2,21     | 2     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 64  | 3   | 7,46E+05       | 99,00%    | 1,94     | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 64  | 4   | 4,04E+05       | 99,00%    | 2,21     | 2     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 0 s        | 65  | 1   | 9,39E+06       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 65  | 2   | 3,39E+06       | 64,00%    | 0,44     | 4     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 65  | 3   | 3,00E+05       | 97,00%    | 1,5      | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 65  | 4   | 1,83E+05       | 98,00%    | 1,71     | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s        | 66  | 1   | 4,19E+08       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 66  | 2   | 8,79E+07       | 79,00%    | 0,68     | 4     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 66  | 3   | 6,60E+03       | 100,00%   | 4,8      | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 66  | 4   | 8,40E+07       | 80,00%    | 0,7      | 4     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s        | 67  | 1   | 4,40E+06       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 67  | 2   | 2,00E+02       | 100,00%   | 4,34     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 67  | 3   | 3,20E+04       | 99,00%    | 2,14     | 2     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 67  | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 4,34     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 0 s        | 68  | 1   | 5,19E+06       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 68  | 2   | 6,45E+04       | 99,00%    | 1,91     | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 68  | 3   | 2,13E+05       | 96,00%    | 1,39     | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 68  | 4   | 8,55E+04       | 98,00%    | 1,78     | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s        | 69  | 1   | 3,45E+07       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 69  | 2   | 4,08E+05       | 99,00%    | 1,93     | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 69  | 3   | 7,20E+06       | 79,00%    | 0,68     | 4     |

| Keim      | Konz.   | Keimträger | Bedampfung | Tag | Nr. | CFU/Keimträger | proz. Red | log-Red. | Score |
|-----------|---------|------------|------------|-----|-----|----------------|-----------|----------|-------|
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 69  | 4   | 1,65E+05       | 100,00%   | 2,32     | 2     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s        | 70  | 1   | 1,98E+07       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 70  | 2   | 1,18E+05       | 99,00%    | 2,22     | 2     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 70  | 3   | 2,72E+05       | 99,00%    | 1,86     | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 1 s        | 70  | 4   | 1,30E+06       | 93,00%    | 1,18     | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 0 s        | 71  | 1   | 1,13E+08       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 71  | 2   | 9,00E+04       | 100,00%   | 3,1      | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 71  | 3   | 1,13E+04       | 100,00%   | 4        | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 1 s        | 71  | 4   | 1,22E+04       | 100,00%   | 3,97     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s        | 72  | 1   | 4,35E+08       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 72  | 2   | 1,50E+07       | 97,00%    | 1,46     | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 72  | 3   | 2,82E+06       | 99,00%    | 2,19     | 2     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 1 s        | 72  | 4   | 3,00E+04       | 100,00%   | 4,16     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s        | 73  | 1   | 2,98E+08       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 73  | 2   | 6,13E+04       | 100,00%   | 3,69     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 73  | 3   | 9,42E+04       | 100,00%   | 3,5      | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 73  | 4   | 1,18E+06       | 100,00%   | 2,4      | 2     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 0 s        | 74  | 1   | 1,82E+07       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 74  | 2   | 3,00E+02       | 100,00%   | 4,78     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 74  | 3   | 3,11E+05       | 98,00%    | 1,77     | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 74  | 4   | 3,30E+03       | 100,00%   | 3,74     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s        | 75  | 1   | 2,10E+06       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 75  | 2   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,15     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 75  | 3   | 2,13E+06       | -1,00%    | -0,01    | 4     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 75  | 4   | 1,50E+02       | 100,00%   | 4,15     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s        | 76  | 1   | 6,23E+07       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 76  | 2   | 1,20E+03       | 100,00%   | 4,72     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 76  | 3   | 1,78E+04       | 100,00%   | 3,54     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 76  | 4   | 1,07E+06       | 98,00%    | 1,77     | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 0 s        | 77  | 1   | 5,05E+07       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 77  | 2   | 2,10E+03       | 100,00%   | 4,38     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 77  | 3   | 1,50E+02       | 100,00%   | 5,53     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 77  | 4   | 3,00E+02       | 100,00%   | 5,23     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s        | 78  | 1   | 4,41E+07       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 78  | 2   | 4,53E+04       | 100,00%   | 2,99     | 2     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 78  | 3   | 1,17E+05       | 100,00%   | 2,58     | 2     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 0 s        | 79  | 1   | 6,10E+07       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 79  | 2   | 8,20E+05       | 99,00%    | 1,87     | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 79  | 3   | 9,06E+05       | 99,00%    | 1,83     | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Fliese     | 3 s        | 79  | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 5,48     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 0 s        | 80  | 1   | 9,02E+07       |           |          |       |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 80  | 2   | 2,00E+02       | 100,00%   | 5,65     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 80  | 3   | 7,80E+03       | 100,00%   | 4,06     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | PVC        | 3 s        | 80  | 4   | 2,00E+02       | 100,00%   | 5,65     | 1     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 0 s        | 81  | 1   | 2,60E+07       |           |          |       |



| Keim      | Konz.   | Keimträger | Bedampfung | Tag | Nr. | CFU/Keimträger | proz. Red | log-Red. | Score |
|-----------|---------|------------|------------|-----|-----|----------------|-----------|----------|-------|
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 81  | 2   | 2,52E+06       | 90,00%    | 1,01     | 3     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 81  | 3   | 3,32E+04       | 100,00%   | 2,89     | 2     |
| <i>Pa</i> | Biofilm | Linoleum   | 3 s        | 81  | 4   | 6,36E+04       | 100,00%   | 2,61     | 2     |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s        | 82  | 1   | 8,69E+04       |           |          |       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 1 s        | 82  | 2   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,64     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 1 s        | 82  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,64     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 1 s        | 82  | 4   | 6,00E+00       | 100,00%   | 4,16     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 0 s        | 83  | 1   | 7,23E+03       |           |          |       |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 1 s        | 83  | 2   | 2,00E+00       | 100,00%   | 3,56     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 1 s        | 83  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 3,56     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 1 s        | 83  | 4   | 2,00E+00       | 100,00%   | 3,56     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 0 s        | 84  | 1   | 3,28E+04       |           |          |       |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 1 s        | 84  | 2   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,21     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 1 s        | 84  | 3   | 5,00E+01       | 100,00%   | 2,82     | 2     |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 1 s        | 84  | 4   | 4,00E+00       | 100,00%   | 3,91     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s        | 85  | 1   | 2,78E+04       |           |          |       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 1 s        | 85  | 2   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,14     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 1 s        | 85  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,14     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 1 s        | 85  | 4   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,14     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 0 s        | 86  | 1   | 2,90E+04       |           |          |       |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 1 s        | 86  | 2   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,16     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 1 s        | 86  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,16     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 1 s        | 86  | 4   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,16     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 0 s        | 87  | 1   | 2,84E+05       |           |          |       |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 1 s        | 87  | 2   | 4,00E+00       | 100,00%   | 4,85     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 1 s        | 87  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 5,15     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 1 s        | 87  | 4   | 6,00E+00       | 100,00%   | 4,68     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s        | 88  | 1   | 1,52E+04       |           |          |       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 1 s        | 88  | 2   | 2,00E+00       | 100,00%   | 3,88     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 1 s        | 88  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 3,88     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 1 s        | 88  | 4   | 3,00E+01       | 100,00%   | 2,7      | 2     |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 0 s        | 89  | 1   | 2,60E+04       |           |          |       |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 1 s        | 89  | 2   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,11     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 1 s        | 89  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,11     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 1 s        | 89  | 4   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,11     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 0 s        | 90  | 1   | 9,73E+04       |           |          |       |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 1 s        | 90  | 2   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,69     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 1 s        | 90  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,69     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Linoleum   | 1 s        | 90  | 4   | 6,00E+00       | 100,00%   | 4,21     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 0 s        | 91  | 1   | 2,66E+04       |           |          |       |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 3 s        | 91  | 2   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,12     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 3 s        | 91  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,12     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | Fliese     | 3 s        | 91  | 4   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,12     | 1     |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 0 s        | 92  | 1   | 2,70E+04       |           |          |       |
| <i>Mc</i> |         | PVC        | 3 s        | 92  | 2   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,13     | 1     |

| Keim | Konz. | Keimträger | Bedampfung | Tag | Nr. | CFU/Keimträger | proz. Red | log-Red. | Score |
|------|-------|------------|------------|-----|-----|----------------|-----------|----------|-------|
| Mc   |       | PVC        | 3 s        | 92  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,13     | 1     |
| Mc   |       | PVC        | 3 s        | 92  | 4   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,13     | 1     |
| Mc   |       | Linoleum   | 0 s        | 93  | 1   | 1,50E+05       |           |          |       |
| Mc   |       | Linoleum   | 3 s        | 93  | 2   | 4,00E+00       | 100,00%   | 4,57     | 1     |
| Mc   |       | Linoleum   | 3 s        | 93  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,88     | 1     |
| Mc   |       | Linoleum   | 3 s        | 93  | 4   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,88     | 1     |
| Mc   |       | Fliese     | 0 s        | 94  | 1   | 9,80E+03       |           |          |       |
| Mc   |       | Fliese     | 3 s        | 94  | 2   | 2,00E+00       | 100,00%   | 3,69     | 1     |
| Mc   |       | Fliese     | 3 s        | 94  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 3,69     | 1     |
| Mc   |       | Fliese     | 3 s        | 94  | 4   | 2,00E+00       | 100,00%   | 3,69     | 1     |
| Mc   |       | PVC        | 0 s        | 95  | 1   | 7,40E+03       |           |          |       |
| Mc   |       | PVC        | 3 s        | 95  | 2   | 1,20E+01       | 100,00%   | 2,79     | 2     |
| Mc   |       | PVC        | 3 s        | 95  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 3,57     | 1     |
| Mc   |       | PVC        | 3 s        | 95  | 4   | 2,00E+00       | 100,00%   | 3,57     | 1     |
| Mc   |       | Linoleum   | 0 s        | 96  | 1   | 6,02E+04       |           |          |       |
| Mc   |       | Linoleum   | 3 s        | 96  | 2   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,48     | 1     |
| Mc   |       | Linoleum   | 3 s        | 96  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,48     | 1     |
| Mc   |       | Linoleum   | 3 s        | 96  | 4   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,48     | 1     |
| Mc   |       | Fliese     | 0 s        | 97  | 1   | 1,20E+04       |           |          |       |
| Mc   |       | Fliese     | 3 s        | 97  | 2   | 2,00E+00       | 100,00%   | 3,78     | 1     |
| Mc   |       | Fliese     | 3 s        | 97  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 3,78     | 1     |
| Mc   |       | Fliese     | 3 s        | 97  | 4   | 2,00E+00       | 100,00%   | 3,78     | 1     |
| Mc   |       | PVC        | 0 s        | 98  | 1   | 2,88E+04       |           |          |       |
| Mc   |       | PVC        | 3 s        | 98  | 2   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,16     | 1     |
| Mc   |       | PVC        | 3 s        | 98  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,16     | 1     |
| Mc   |       | PVC        | 3 s        | 98  | 4   | 2,00E+00       | 100,00%   | 4,16     | 1     |
| Mc   |       | Linoleum   | 0 s        | 99  | 1   | 2,06E+05       |           |          |       |
| Mc   |       | Linoleum   | 3 s        | 99  | 2   | 8,00E+00       | 100,00%   | 4,41     | 1     |
| Mc   |       | Linoleum   | 3 s        | 99  | 3   | 2,00E+00       | 100,00%   | 5,01     | 1     |
| Mc   |       | Linoleum   | 3 s        | 99  | 4   | 2,00E+00       | 100,00%   | 5,01     | 1     |

### 2.3 Feldstudie

| Lokalisation | Bedampfungszeit | Tag | Nr. | CFU/m <sup>2</sup> | Prozentuale Reduktion | Score |
|--------------|-----------------|-----|-----|--------------------|-----------------------|-------|
| PVC-Fußboden | 0 s             | 1   | 1   | 1,12E+04           | 85,71%                | 4     |
| PVC-Fußboden | 0 s             | 1   | 2   | 1,28E+04           | 75,00%                | 4     |
| PVC-Fußboden | 0 s             | 2   | 1   | 3,20E+04           | 95,00%                | 3     |
| PVC-Fußboden | 0 s             | 2   | 2   | 4,56E+04           | 100,00%               | 1     |
| PVC-Fußboden | 0 s             | 3   | 1   | 1,04E+04           | 84,62%                | 4     |
| PVC-Fußboden | 0 s             | 3   | 2   | 1,36E+04           | 82,35%                | 4     |
| PVC-Fußboden | 0 s             | 4   | 1   | 8,00E+03           | 100,00%               | 1     |
| PVC-Fußboden | 0 s             | 4   | 2   | 9,60E+03           | 100,00%               | 1     |
| PVC-Fußboden | 0 s             | 5   | 1   | 1,60E+04           | 100,00%               | 1     |
| PVC-Fußboden | 0 s             | 5   | 2   | 2,00E+04           | 100,00%               | 1     |

| Lokalisation     | Bedampfungszeit | Tag | Nr. | CFU/m <sup>2</sup> | Prozentuale Reduktion | Score |
|------------------|-----------------|-----|-----|--------------------|-----------------------|-------|
| PVC-Fußboden     | 0 s             | 6   | 1   | 6,64E+04           | 96,39%                | 3     |
| PVC-Fußboden     | 0 s             | 6   | 2   | 9,20E+04           | 100,00%               | 1     |
| PVC-Fußboden     | 0 s             | 7   | 1   | 1,29E+05           | 92,56%                | 3     |
| PVC-Fußboden     | 0 s             | 7   | 2   | 6,72E+04           | 92,86%                | 3     |
| PVC-Fußboden     | 0 s             | 8   | 1   | 3,52E+04           | 100,00%               | 1     |
| PVC-Fußboden     | 0 s             | 8   | 2   | 2,64E+04           | 96,97%                | 3     |
| PVC-Fußboden     | 0 s             | 9   | 1   | 6,48E+04           | 98,77%                | 3     |
| PVC-Fußboden     | 0 s             | 9   | 2   | 1,28E+04           | 93,75%                | 3     |
| PVC-Fußboden     | 0 s             | 10  | 1   | 4,80E+03           | 50,00%                | 4     |
| PVC-Fußboden     | 0 s             | 10  | 2   | 1,04E+04           | 92,31%                | 3     |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 1   | 1   | 1,60E+03           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 1   | 2   | 3,20E+03           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 2   | 1   | 1,60E+03           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 2   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 3   | 1   | 1,60E+03           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 3   | 2   | 2,40E+03           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 4   | 1   | 0,00E+00           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 4   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 5   | 1   | 0,00E+00           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 5   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 6   | 1   | 2,40E+03           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 6   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 7   | 1   | 9,60E+03           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 7   | 2   | 4,80E+03           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 8   | 1   | 0,00E+00           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 8   | 2   | 8,00E+02           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 9   | 1   | 8,00E+02           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 9   | 2   | 8,00E+02           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 10  | 1   | 2,40E+03           |                       |       |
| PVC-Fußboden     | 1 s             | 10  | 2   | 8,00E+02           |                       |       |
| Behandlungstisch | 0 s             | 1   | 1   | 1,28E+04           | 93,75%                | 3     |
| Behandlungstisch | 0 s             | 1   | 2   | 5,60E+03           | 85,71%                | 4     |
| Behandlungstisch | 0 s             | 2   | 1   | 1,60E+04           | 95,00%                | 3     |
| Behandlungstisch | 0 s             | 2   | 2   | 2,08E+04           | 100,00%               | 1     |
| Behandlungstisch | 0 s             | 3   | 1   | 1,04E+04           | 100,00%               | 1     |
| Behandlungstisch | 0 s             | 3   | 2   | 7,20E+03           | 100,00%               | 1     |
| Behandlungstisch | 0 s             | 4   | 1   | 2,40E+03           | 66,67%                | 4     |
| Behandlungstisch | 0 s             | 4   | 2   | 1,60E+04           | 100,00%               | 1     |
| Behandlungstisch | 0 s             | 5   | 1   | 8,80E+03           | 63,64%                | 4     |
| Behandlungstisch | 0 s             | 5   | 2   | 7,20E+03           | 55,56%                | 4     |
| Behandlungstisch | 0 s             | 6   | 1   | 0,00E+00           | 0,00%                 | 4     |
| Behandlungstisch | 0 s             | 6   | 2   | 8,00E+02           | 100,00%               | 1     |
| Behandlungstisch | 0 s             | 7   | 1   | 9,60E+03           | 91,67%                | 3     |
| Behandlungstisch | 0 s             | 7   | 2   | 2,24E+04           | 89,29%                | 4     |
| Behandlungstisch | 0 s             | 8   | 1   | 1,44E+04           | 88,89%                | 4     |

| Lokalisation      | Bedampfungszeit | Tag | Nr. | CFU/m <sup>2</sup> | Prozentuale Reduktion | Score |
|-------------------|-----------------|-----|-----|--------------------|-----------------------|-------|
| Behandlungstisch  | 0 s             | 8   | 2   | 2,56E+04           | 56,25%                | 4     |
| Behandlungstisch  | 0 s             | 9   | 1   | 7,20E+03           | 100,00%               | 1     |
| Behandlungstisch  | 0 s             | 9   | 2   | 4,80E+03           | 83,33%                | 4     |
| Behandlungstisch  | 0 s             | 10  | 1   | 4,00E+03           | 80,00%                | 4     |
| Behandlungstisch  | 0 s             | 10  | 2   | 4,00E+03           | -60,00%               | 4     |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 1   | 1   | 8,00E+02           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 1   | 2   | 8,00E+02           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 2   | 1   | 8,00E+02           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 2   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 3   | 1   | 0,00E+00           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 3   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 4   | 1   | 8,00E+02           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 4   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 5   | 1   | 3,20E+03           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 5   | 2   | 3,20E+03           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 6   | 1   | 2,32E+04           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 6   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 7   | 1   | 8,00E+02           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 7   | 2   | 2,40E+03           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 8   | 1   | 1,60E+03           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 8   | 2   | 1,12E+04           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 9   | 1   | 0,00E+00           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 9   | 2   | 8,00E+02           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 10  | 1   | 8,00E+02           |                       |       |
| Behandlungstisch  | 1 s             | 10  | 2   | 6,40E+03           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 1   | 1   | 1,44E+04           | 94,44%                | 3     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 1   | 2   | 4,00E+03           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 2   | 1   | 1,04E+04           | 53,85%                | 4     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 2   | 2   | 2,80E+04           | 17,14%                | 4     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 3   | 1   | 3,20E+03           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 3   | 2   | 3,20E+03           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 4   | 1   | 2,08E+04           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 4   | 2   | 4,00E+03           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 5   | 1   | 1,60E+04           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 5   | 2   | 8,80E+03           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 6   | 1   | 3,12E+04           | 97,44%                | 3     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 6   | 2   | 1,36E+04           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 7   | 1   | 2,40E+04           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 7   | 2   | 2,40E+03           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 8   | 1   | 6,40E+03           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 8   | 2   | 1,20E+04           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 9   | 1   | 5,60E+03           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 9   | 2   | 1,04E+04           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 10  | 1   | 1,20E+04           | 100,00%               | 1     |
| Mikroskopiertisch | 0 s             | 10  | 2   | 4,00E+03           | 100,00%               | 1     |

| Lokalisation      | Bedampfungszeit | Tag | Nr. | CFU/m <sup>2</sup> | Prozentuale Reduktion | Score |
|-------------------|-----------------|-----|-----|--------------------|-----------------------|-------|
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 1   | 1   | 8,00E+02           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 1   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 2   | 1   | 4,80E+03           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 2   | 2   | 2,32E+04           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 3   | 1   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 3   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 4   | 1   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 4   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 5   | 1   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 5   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 6   | 1   | 8,00E+02           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 6   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 7   | 1   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 7   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 8   | 1   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 8   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 9   | 1   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 9   | 2   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 10  | 1   | 0,00E+00           |                       |       |
| Mikroskopiertisch | 1 s             | 10  | 2   | 0,00E+00           |                       |       |

### 3. Statistik

#### 3.1 Laborstudie

Vergleich der Scores der Keimträger Fliese, PVC und Linoleum bei 1 s Bedampfungszeit

| Chi-Quadrat-Tests                 |                    |    |  |                                      |                                      |                              |
|-----------------------------------|--------------------|----|--|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
|                                   | Wert               | df | Asymptotische<br>Signifikanz<br>(zweiseitig) | Exakte<br>Signifikanz (2-<br>seitig) | Exakte<br>Signifikanz (1-<br>seitig) | Punkt-<br>Wahrscheinlichkeit |
| Chi-Quadrat nach<br>Pearson       | 1.820 <sup>a</sup> | 6  | .936   | .941                                 |                                      |                              |
| Likelihood-Quotient               | 1.807              | 6  | .937   | .943                                 |                                      |                              |
| Exakter Test nach<br>Fisher       | 1.961              |    |  | .939                                 |                                      |                              |
| Zusammenhang<br>linear-mit-linear | .056 <sup>b</sup>  | 1  | .813   | .830                                 | .428                                 | .042                         |
| Anzahl der gültigen<br>Fälle      | 161                |    |  |                                      |                                      |                              |

a. 3 Zellen (25,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 2,63.

b. Die standardisierte Statistik ist -,236.

## Vergleich der Scores der Keimträger Fliese, PVC und Linoleum bei 3 s Bedampfungszeit

**Chi-Quadrat-Tests**

|                                | Wert                | df | Asymptotische<br>Signifikanz<br>(zweiseitig) | Exakte<br>Signifikanz (2-<br>seitig) | Exakte<br>Signifikanz (1-<br>seitig) | Punkt-<br>Wahrscheinlichkeit |
|--------------------------------|---------------------|----|--|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| Chi-Quadrat nach Pearson       | 19.766 <sup>a</sup> | 6  | .003   | .002                                 |                                      |                              |
| Likelihood-Quotient            | 18.739              | 6  | .005   | .007                                 |                                      |                              |
| Exakter Test nach Fisher       | 17.693              |    |  | .002                                 |                                      |                              |
| Zusammenhang linear-mit-linear | 1.420 <sup>b</sup>  | 1  | .233   | .260                                 | .132                                 | .028                         |
| Anzahl der gültigen Fälle      | 134                 |    |  |                                      |                                      |                              |

a. 6 Zellen (50,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 1,64.

b. Die standardisierte Statistik ist 1,192.

## Vergleich von allen erzielten Scores zwischen 1 und 3 s Bedampfungszeit

**Chi-Quadrat-Tests**

|                                | Wert                | df | Asymptotische<br>Signifikanz<br>(zweiseitig) | Exakte<br>Signifikanz (2-<br>seitig) | Exakte<br>Signifikanz (1-<br>seitig) | Punkt-<br>Wahrscheinlichkeit |
|--------------------------------|---------------------|----|--|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| Chi-Quadrat nach Pearson       | 21.192 <sup>a</sup> | 3  | .000   | .000                                 |                                      |                              |
| Likelihood-Quotient            | 22.319              | 3  | .000   | .000                                 |                                      |                              |
| Exakter Test nach Fisher       | 21.737              |    |  | .000                                 |                                      |                              |
| Zusammenhang linear-mit-linear | 15.763 <sup>b</sup> | 1  | .000   | .000                                 | .000                                 | .000                         |
| Anzahl der gültigen Fälle      | 295                 |    |  |                                      |                                      |                              |

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 5,91.

b. Die standardisierte Statistik ist -3,970.

Vergleich der Scores der verschiedenen Mikroorganismen (*Sp*, *Pa*, *Mc*) bei 1 s

| Chi-Quadrat-Tests                 |                     |    |  |                                      |                                      |                              |
|-----------------------------------|---------------------|----|--|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
|                                   | Wert                | df | Asymptotische<br>Signifikanz<br>(zweiseitig) | Exakte<br>Signifikanz (2-<br>seitig) | Exakte<br>Signifikanz (1-<br>seitig) | Punkt-<br>Wahrscheinlichkeit |
| Chi-Quadrat nach<br>Pearson       | 59.145 <sup>a</sup> | 6  | .000   | .000                                 |                                      |                              |
| Likelihood-Quotient               | 66.551              | 6  | .000   | .000                                 |                                      |                              |
| Exakter Test nach<br>Fisher       | 59.610              |    |  | .000                                 |                                      |                              |
| Zusammenhang<br>linear-mit-linear | .142 <sup>b</sup>   | 1  | .706   | .725                                 | .378                                 | .044                         |
| Anzahl der gültigen<br>Fälle      | 161                 |    |  |                                      |                                      |                              |

a. 4 Zellen (33,3%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 1,34.

b. Die standardisierte Statistik ist -,377.

Vergleich der Scores der verschiedenen Mikroorganismen (*Sp*, *Pa*, *Mc*) bei 3 s

| Chi-Quadrat-Tests                 |                     |    |  |                                      |                                      |                              |
|-----------------------------------|---------------------|----|--|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
|                                   | Wert                | df | Asymptotische<br>Signifikanz<br>(zweiseitig) | Exakte<br>Signifikanz (2-<br>seitig) | Exakte<br>Signifikanz (1-<br>seitig) | Punkt-<br>Wahrscheinlichkeit |
| Chi-Quadrat nach<br>Pearson       | 25.751 <sup>a</sup> | 6  | .000   | .000                                 |                                      |                              |
| Likelihood-Quotient               | 24.646              | 6  | .000   | .000                                 |                                      |                              |
| Exakter Test nach<br>Fisher       | 20.281              |    |  | .001                                 |                                      |                              |
| Zusammenhang<br>linear-mit-linear | 3.414 <sup>b</sup>  | 1  | .065   | .071                                 | .033                                 | .010                         |
| Anzahl der gültigen<br>Fälle      | 134                 |    |  |                                      |                                      |                              |

a. 6 Zellen (50,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist ,97.

b. Die standardisierte Statistik ist -1,848.

Vergleich der Scores der unterschiedlicher Konzentrationen (McF 1.0, McF 4.0, Biofilm) bei  $S_p$  (1 s)

**Chi-Quadrat-Tests**

|                                | Wert                | df | Asymptotische<br>Signifikanz<br>(zweiseitig) | Exakte<br>Signifikanz (2-<br>seitig) | Exakte<br>Signifikanz (1-<br>seitig) | Punkt-<br>Wahrscheinlichkeit |
|--------------------------------|---------------------|----|--|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| Chi-Quadrat nach Pearson       | 41.534 <sup>a</sup> | 6  | .000   | .000                                 |                                      | .000                         |
| Likelihood-Quotient            | 45.817              | 6  | .000   | .000                                 |                                      |                              |
| Exakter Test nach Fisher       | 39.442              |    |  | .000                                 |                                      |                              |
| Zusammenhang linear-mit-linear | 10.449 <sup>b</sup> | 1  | .001   | .001                                 | .001                                 |                              |
| Anzahl der gültigen Fälle      | 80                  |    |  |                                      |                                      |                              |

a. 6 Zellen (50,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist ,33.

b. Die standardisierte Statistik ist 3,232.

Vergleich der Scores der unterschiedlichen Konzentrationen (McF 1.0, McF 4.0, Biofilm) bei  $S_p$  (3 s)

**Chi-Quadrat-Tests**

|                                | Wert                | df | Asymptotische<br>Signifikanz<br>(zweiseitig) | Exakte<br>Signifikanz (2-<br>seitig) | Exakte<br>Signifikanz (1-<br>seitig) | Punkt-<br>Wahrscheinlichkeit |
|--------------------------------|---------------------|----|--|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| Chi-Quadrat nach Pearson       | 25.717 <sup>a</sup> | 6  | .000   | .000                                 |                                      | .000                         |
| Likelihood-Quotient            | 28.186              | 6  | .000   | .000                                 |                                      |                              |
| Exakter Test nach Fisher       | 23.747              |    |  | .000                                 |                                      |                              |
| Zusammenhang linear-mit-linear | 12.882 <sup>b</sup> | 1  | .000   | .000                                 | .000                                 |                              |
| Anzahl der gültigen Fälle      | 81                  |    |  |                                      |                                      |                              |

a. 6 Zellen (50,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist ,33.

b. Die standardisierte Statistik ist 3,589.



Vergleich der Scores der unterschiedlichen Konzentrationen (McF 4.0, Biofilm) bei  $P_a$  (1 s)

| Chi-Quadrat-Tests                 |                     |    |  |                                      |                                      |                              |
|-----------------------------------|---------------------|----|--|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
|                                   | Wert                | df | Asymptotische<br>Signifikanz<br>(zweiseitig) | Exakte<br>Signifikanz (2-<br>seitig) | Exakte<br>Signifikanz (1-<br>seitig) | Punkt-<br>Wahrscheinlichkeit |
| Chi-Quadrat nach<br>Pearson       | 11.053 <sup>a</sup> | 3  | .011   | .011                                 |                                      | .101                         |
| Likelihood-Quotient               | 13.885              | 3  | .003   | .007                                 |                                      |                              |
| Exakter Test nach<br>Fisher       | 11.382              |    |  | .008                                 |                                      |                              |
| Zusammenhang<br>linear-mit-linear | .379 <sup>b</sup>   | 1  | .538   | .647                                 | .323                                 |                              |
| Anzahl der gültigen<br>Fälle      | 54                  |    |  |                                      |                                      |                              |

a. 4 Zellen (50,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 3,50.

b. Die standardisierte Statistik ist -,615.

Vergleich der Scores der unterschiedlichen Bedampfungszeiten (1 s, 3 s) bei  $S_p$  (McF 1.0)

| Chi-Quadrat-Tests                  |                    |    |  |                                     |                                     |                              |
|------------------------------------|--------------------|----|--|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|
|                                    | Wert               | df | Asymptotische<br>Signifikanz<br>(zweiseitig) | Exakte<br>Signifikanz<br>(2-seitig) | Exakte<br>Signifikanz<br>(1-seitig) | Punkt-<br>Wahrscheinlichkeit |
| Chi-Quadrat nach<br>Pearson        | 4.316 <sup>a</sup> | 1  | .038   | .051                                | .036                                | .027                         |
| Kontinuitätskorrektur <sup>b</sup> | 3.228              | 1  | .072   |                                     |                                     |                              |
| Likelihood-Quotient                | 4.381              | 1  | .036   | .051                                | .036                                |                              |
| Exakter Test nach<br>Fisher        |                    |    |  | .051                                | .036                                |                              |
| Zusammenhang linear-<br>mit-linear | 4.235 <sup>c</sup> | 1  | .040   | .051                                | .036                                |                              |
| Anzahl der gültigen<br>Fälle       | 53                 |    |  |                                     |                                     |                              |

a. 0 Zellen (,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 10,30.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

c. Die standardisierte Statistik ist -2,058.

Vergleich der Scores der unterschiedlichen Bedampfungszeiten (1 s, 3 s) bei  $S_p$  (McF 4.0)

| Chi-Quadrat-Tests                  |                   |    |  |                                     |                                     |                              |
|------------------------------------|-------------------|----|--|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|
|                                    | Wert              | df | Asymptotische<br>Signifikanz<br>(zweiseitig) | Exakte<br>Signifikanz<br>(2-seitig) | Exakte<br>Signifikanz<br>(1-seitig) | Punkt-<br>Wahrscheinlichkeit |
| Chi-Quadrat nach Pearson           | .000 <sup>a</sup> | 1  | 1.000  | 1.000                               | .695                                |                              |
| Kontinuitätskorrektur <sup>b</sup> | .000              | 1  | 1.000  |                                     |                                     |                              |
| Likelihood-Quotient                | .000              | 1  | 1.000  | 1.000                               | .695                                |                              |
| Exakter Test nach Fisher           |                   |    |  | 1.000                               | .695                                |                              |
| Zusammenhang linear-mit-linear     | .000 <sup>c</sup> | 1  | 1.000  | 1.000                               | .695                                |                              |
| Anzahl der gültigen Fälle          | 54                |    |  |                                     |                                     | .390                         |

a. 2 Zellen (50,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 2,00.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

c. Die standardisierte Statistik ist ,000.

Vergleich der Scores der unterschiedlichen Bedampfungszeiten (1 s, 3 s) bei  $S_p$  (Biofilm)

| Chi-Quadrat-Tests              |                    |    |  |                                      |                                      |                              |
|--------------------------------|--------------------|----|--|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
|                                | Wert               | df | Asymptotische<br>Signifikanz<br>(zweiseitig) | Exakte<br>Signifikanz (2-<br>seitig) | Exakte<br>Signifikanz (1-<br>seitig) | Punkt-<br>Wahrscheinlichkeit |
| Chi-Quadrat nach Pearson       | 8.967 <sup>a</sup> | 3  | .030   | .025                                 |                                      |                              |
| Likelihood-Quotient            | 10.060             | 3  | .018   | .028                                 |                                      |                              |
| Exakter Test nach Fisher       | 8.925              |    |  | .025                                 |                                      |                              |
| Zusammenhang linear-mit-linear | .551 <sup>b</sup>  | 1  | .458   | .556                                 | .278                                 |                              |
| Anzahl der gültigen Fälle      | 54                 |    |  |                                      |                                      |                              |

a. 2 Zellen (25,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 2,50.

b. Die standardisierte Statistik ist -,742.

Vergleich der Scores der unterschiedlichen Bedampfungszeiten (1 s, 3 s) bei *Pa* (Biofilm)

| Chi-Quadrat-Tests                 |                    |    |  |                                      |                                      |                              |
|-----------------------------------|--------------------|----|--|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
|                                   | Wert               | df | Asymptotische<br>Signifikanz<br>(zweiseitig) | Exakte<br>Signifikanz (2-<br>seitig) | Exakte<br>Signifikanz (1-<br>seitig) | Punkt-<br>Wahrscheinlichkeit |
| Chi-Quadrat nach<br>Pearson       | 6.450 <sup>a</sup> | 3  | .092   | .098                                 |                                      | .005                         |
| Likelihood-Quotient               | 6.675              | 3  | .083   | .116                                 |                                      |                              |
| Exakter Test nach<br>Fisher       | 6.236              |    |  | .102                                 |                                      |                              |
| Zusammenhang<br>linear-mit-linear | 6.198 <sup>b</sup> | 1  | .013   | .017                                 | .009                                 |                              |
| Anzahl der gültigen<br>Fälle      | 53                 |    |  |                                      |                                      |                              |

a. 2 Zellen (25,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 2,45.

b. Die standardisierte Statistik ist -2,489.

Vergleich der Scores der unterschiedlichen Bedampfungszeiten (1 s, 3 s) bei *Mc*

| Chi-Quadrat-Tests                  |                   |    |  |                                     |                                     |                              |
|------------------------------------|-------------------|----|--|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|
|                                    | Wert              | df | Asymptotische<br>Signifikanz<br>(zweiseitig) | Exakte<br>Signifikanz<br>(2-seitig) | Exakte<br>Signifikanz<br>(1-seitig) | Punkt-<br>Wahrscheinlichkeit |
| Chi-Quadrat nach<br>Pearson        | .353 <sup>a</sup> | 1  | .552   | 1.000                               | .500                                | .382                         |
| Kontinuitätskorrektur <sup>b</sup> | .000              | 1  | 1.000  |                                     |                                     |                              |
| Likelihood-Quotient                | .359              | 1  | .549   | 1.000                               | .500                                |                              |
| Exakter Test nach<br>Fisher        |                   |    |  | 1.000                               | .500                                |                              |
| Zusammenhang linear-<br>mit-linear | .346 <sup>c</sup> | 1  | .556   | 1.000                               | .500                                |                              |
| Anzahl der gültigen<br>Fälle       | 54                |    |  |                                     |                                     |                              |

a. 2 Zellen (50,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 1,50.

b. Wird nur für eine 2x2-Tabelle berechnet

c. Die standardisierte Statistik ist -,589.

### 3.2 Feldstudie

Vergleich der Scores der unterschiedlichen Lokalisationen (PVC-Fußboden, Behandlungstisch, Mikroskopiertisch) bei 1 s Bedampfungszeit

**Chi-Quadrat-Tests**

|                                   | Wert               | df | Asymptotische<br>Signifikanz<br>(zweiseitig) | Exakte<br>Signifikanz (2-<br>seitig) | Exakte<br>Signifikanz (1-<br>seitig) | Punkt-<br>Wahrscheinlichkeit |
|-----------------------------------|--------------------|----|--|--------------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| Chi-Quadrat nach<br>Pearson       | 9.450 <sup>a</sup> | 4  | .051   | .054                                 |                                      |                              |
| Likelihood-Quotient               | 9.615              | 4  | .047   | .080                                 |                                      |                              |
| Exakter Test nach<br>Fisher       | 8.519              |    |  | .069                                 |                                      |                              |
| Zusammenhang<br>linear-mit-linear | 4.833 <sup>b</sup> | 1  | .028   | .033                                 | .017                                 | .007                         |
| Anzahl der gültigen<br>Fälle      | 30                 |    |  |                                      |                                      |                              |

a. 9 Zellen (100,0%) haben eine erwartete Häufigkeit kleiner 5. Die minimale erwartete Häufigkeit ist 2,67.

b. Die standardisierte Statistik ist -2,198.

## **X. DANKSAGUNG**

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich auf dem Weg der Promotion begleitet haben.

Allen voran möchte ich mich ganz herzlich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Ralf S. Mueller für den Themenvorschlag und die tolle Betreuung bedanken. Es hat sehr viel Spaß gemacht in einem so großartigen Team und in einer so angenehmen Arbeitsatmosphäre mitwirken zu dürfen.

Ebenfalls ganz herzlich möchte ich Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger danken, der zu jeder Zeit ein offenes Ohr für mich hatte und mich von Anfang an auf meinem Weg durch innovative und konstruktive Ideen und Ratschläge immer wieder voran gebracht hat.

Dem gesamten Dermateam möchte ich für eine wunderbare Zeit danken. Diese hat nicht nur sehr viel Spaß gemacht, mein fachliches Wissen erweitert, sondern auch Freundschaften entstehen lassen.

Beim gesamten Team des Institutes für Infektionsmedizin und Zoonosen möchte ich mich ebenfalls ganz herzlich bedanken. Ich wurde vom ersten Tag an von allen Mitarbeitern sehr freundlich aufgenommen und ich konnte in jeglicher Situation mit Unterstützung rechnen. Ganz besonders möchte ich an dieser Stelle Dr. med. vet. Georg Wolf danken, der mich sowohl durch seine fachliche Kompetenz als auch durch seine Herzlichkeit begeistert hat.

Herrn Dr. med. vet. Sven Reese möchte ich für die freundliche und hilfsbereite Unterstützung bei der statistischen Auswertung meiner Daten danken.

Der Firma bestbion dx GmbH, insbesondere Werner Dummert, möchte ich für die Bereitstellung und die Informationen bezüglich der Abklatschproben danken.

Mein Dank gilt auch meiner Familie, mit deren Unterstützung und Aufmunterung ich in jeglicher Form immer rechnen konnte!

Zu guter Letzt möchte ich mich bei einem ganz besonderen Menschen, Timo, bedanken. Dankeschön, dass du mich in allen Phasen dieser Zeit unterstützt hast, mir immer helfend zur Seite standest und du einfach immer für mich da bist!